AUS DEM ZOOLOGISCHEN INSTITUT HALLE A. S.

BEOBACHTUNGEN UND VERSUCHE AN LEBENDEN ZELLKERNEN

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
EINER HOHEN PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT
DER VEREINIGTEN FRIEDRICHS-UNIVERSITÄT
HALLE-WITTENBERG

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

VORGELEGT VON

RICHARD GROSS
aus Wimpfen

MIT 13 FIGUREN IM TEXT UND 2 TAFELN

HALLE A. S.
1912.

Referent: Professor Dr. Brüel

Sonderabdruck aus: »Archiv für Zellforschung«, Bd. XIV, Heft 3.

Beobachtungen und Versuche an lebenden Zellkernen.

Von

Richard Gross.

(Aus dem Zoologischen Institut Halle a. S.)

Mit 13 Textfiguren und Tafel XV—XVI.

Inhaltsangabe.

Seite

I. Einleitung 280
II. Methodischer Teil 285
1. Auswahl der Kerne 285
2. Methode der Lebendbeobachtungen 286
3. Lösungsversuche 288
A. Auswahl der Reagentien 288
B. Versuchsanordnung 289
III. Untersuchungen 291
A. Limnaea stag.
1. Lebendbeobachtungen 291
2. Lösungsversuche 296
B. Corethralarve.
1. Lebendbeobachtungen 306
2. Lösungsversuche 307
C. Triton- und Salamanderlarve.
1. Lebendbeobachtungen 308
2. Lösungsversuche 313
D. Unio bat. und Anodonta cygn.
1. Lebendbeobachtungen 320
2. Lösungsversuche 323
IV. Allgemeiner Teil 331
A. Über den normalen lebenden Kern.
1. Oxychromiolen 331
2. Chromatinkörnchen und Netzknoten 333
3. Gerüstfrage 335
4. Grundsubstanz und Membran 336
B. Schlüsse aus den Versuchen.
1. Oberflächenbeschaffenheit der Kerne 336
2. Grundsubstanz 339
3. Chromatinkörnchen 342
4. Nucleolen 346
Zusammenfassung 348
Literaturverzeichnis 350
Erklärung der Figuren 352

I. Einleitung.

1) Der Zellkern galt bei seiner Entdeckung durch R. Brown und noch lange Zeit nachher als ein einfaches Bläschen mit verhältnismäßig fester peripherer Schicht (Membran) und einem oder mehreren in einer viscösen Substanz suspendierten Kernkörperchen (Schleiden, Schwann und Kölliker). Andere Autoren (Stricker, Frey) sahen ihn als einen homogenen Klumpen einer festeren Masse innerhalb der Zelle an. Seit den achtziger Jahren aber hat man besonders auf die Arbeiten Flemmings hin, in ihm ein basichromatisch färbbares Kerngerüst und eine Zwischensubstanz, für die R. Hertwig den Namen Kernsaft eingeführt hat, unterschieden. Das Kerngerüst stellt sich in konservierten Präparaten als ein weiteres oder engeres Netzwerk aus feinen Fädchen oder gröberen Strängen dar. Die eigentlich färbbare Substanz dieses Gerüstes nannte Flemming Chromatin, eine weniger tinktionsfähige, die er außerdem noch darin unterschied, erhielt später von Schwarz den Namen Linin. Sie soll, nach einigen Autoren, die mechanisch wirksame Grundlage der Fädchen abgeben. Die in den Knotenpunkten des Kernnetzes sichtbaren, unregelmäßig gestalteten Brocken erklärt Flemming als einfache Verdickungen desselben und gibt ihnen den Namen Netzknoten. Kleinere Körperchen, die häufig außerdem noch zu sehen sind, erklärt er dagegen als optische Durchschnitte des Kerngerüstes. Andere Autoren (Leydig, Eimer, Auerbach, Arndt) haben sie zwar als wirklich distinkte Körner angesehen. Trotzdem blieb aber die Flemmingsche Lehre allgemein dominierend. (Vgl. z. B. Heidenhain, Plasma und Zelle.)

Auf Grund der verschiedenen Färbbarkeit der kleinen Körperchen im konservierten Kern schloß Auerbach als erster, daß Flemmings Chromatin aus zwei färberisch und stofflich verschiedenen Substanzen bestände. Daraus entwickelte sich dann allmählich die von einigen Forschern vertretene Vorstellung, daß in allen Kernen diese beiden Stufen nebeneinander vorhanden wären, die eine als feinste Körnchen namentlich den Raum zwischen dem Gerüst mehr oder weniger füllend (das Oxychromatin Heidenhains), die andere im Gerüst selbst (Basichromatin). Es blieb dabei eine Streitfrage, ob dieses Basichromatin im Gerüst homogen oder als Körnchen auftritt. — Diese Anschauungen sind nun einerseits nur am gefärbten Präparat gewonnen, andererseits stammt das zur Untersuchung herangezogene Material zum größten Teile von Vertebraten, besonders Amphibien. Es ist daher einmal ganz unsicher, ob diese Beobachtungen auch für den lebenden Kern gelten, zumal in diesem nichts

davon zu sehen sein soll. Dann aber ist es sehr fraglich, ob diese Funde für alle Objekte maßgebend sind. Die obige Vorstellung wurde aus diesen Gründen auch nicht allgemein angenommen; indessen nur von wenigen bekämpft.

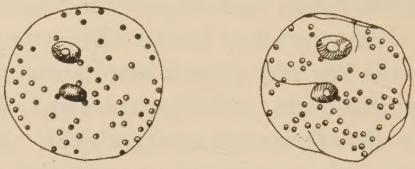
In neuerer Zeit wurde nun auch die ganze herrschende Flemmingsche Lehre angegriffen (Tellyesnicky, Della Valle) und die Behauptung aufgestellt, daß die von ihm und anderen beschriebenen Kernbilder nichts weiter als Schädigungsprodukte, wie Gerinnungen, seien, hervorgerufen durch die Wirkung der Konservierungsflüssigkeit. Die Strukturbilder der angeblich lebenden Kerne seien sehr wahrscheinlich schon Absterbeerscheinungen, da der wirklich lebende Kern, abgesehen von einigen freien Körnern, vollständig homogen wäre.

Zur Entscheidung dieser Fragen besitzen wir aber jetzt zwei Mittel, die eigentlich in der neueren Forschung noch nicht die gebührende Anwendung gefunden haben. Es erlauben uns einmal die Apochromate, die bei starker Vergrößerung noch sehr lichtstarke und scharfe Bilder liefern, leicht erfolgreiche Lebendbeobachtungen anzustellen. Insbesondere das Apochromat 1,5 mm (Objektivabstand) zeigte sich den anderen hierin weit überlegen und ergab bei den angestellten Prüfungen sehr gute Resultate. Sonderbarerweise ist diese Methode, die Beobachtung des Lebenden, auffallend wenig benutzt worden.

Weiter aber ist es möglich, durch künstliche Flüssigkeiten, wie z. B. das Ringersche Gemisch, Kerne, die nicht im Tiere selbst untersucht werden können, längere Zeit überlebend zu erhalten.

Früher wurde zum gleichen Zweck Körperflüssigkeit benutzt, die bei großen Tieren ziemlich gute Dienste leistet. Bei kleineren Tieren ist es oft schwierig, Körperserum vollständig rein zu bekommen, da es beim Herauspräparieren des zu untersuchenden Objektes leicht durch Organsäfte und ähnliches verunreinigt werden kann. Dazu ist es stets möglich, daß Körperflüssigkeit zeitweise oder immer Stoffe (Fermente od. dgl.) enthält, die normalerweise in die Zelle nicht gelangen, und die im Falle, daß die Flüssigkeit, etwa beim allmählichen Absterben der Zelle in diese eindringt, die Kerne direkt schädigen würde. Als Notbehelf diente in früherer Zeit Jodserum, physiologische Kochsalzlösung und andere. Aber Flemming hatte z. B. schon die Wahrnehmung gemacht, daß in Kochsalzlösung oder Humor aqueus die Zellstrukturen sehr rasch quellen und erblassen, heute ist uns bekannt, daß derartige Flüssigkeiten sich wie langsam wirkende Gifte verhalten, vor allem gerade reines Kochsalz. Daß Quellung und ähnliche Veränderungen im Ringerschen Gemisch zumindest nicht ständig auftreten, haben die von mir damit angestellten

Prüfungen und Vergleiche ergeben (vgl. z. B. in Fig. 1, Taf. XV und Textfig. 1 a u. b). In den Prozentverhältnissen der Salze kommt es der Zellflüssigkeit wahrscheinlich nahe; und sicher fehlen ihm schädigende Beimischungen.



a b

Fig. 1.

Speicheldrüsenkerne von *Limnaea*, a frisch, b nach 24 Stunden in RINGER-Lösung.

2) Bei den Untersuchungen fanden sich nun, wie hier vorweg genommen sei, mehrere Klassen von kleinen Körnern, deren verschiedene Größe und Lichtbrechung stoffliche Differenzen vermuten ließen. Es war also notwendig festzustellen, einerseits, ob in jedem Falle die Körner desselben Kernes von gleicher oder verschiedener Beschaffenheit sind und andererseits, wieweit die Körner der einzelnen Kerntypen einander homolog zu setzen wären. Für die Vergleichung der Körner untereinander konnte das gewöhnliche Mittel, die Färbung, nicht allein genügen, da feststeht, daß sich heterogene Stoffe häufig gleich färben. Deshalb wurden als weiteres Mittel Lösungsverfahren herangezogen, wie es von CARNOY und ZACHARIAS, zum gleichen Zweck, mittels einer ganzen Reihe von Flüssigkeiten schon geschehen war. Nach diesen Autoren quillt Chromatin in destilliertem Wasser, in Kochsalzlösung bis zu 10%, in sehr verdünnten alkalischen Lösungen und anderen. Es geht unter Quellung allmählich in Lösung über in Kochsalzlösungen von 10—20%, in Ammoniak, selbst bei starker Verdünnung, in 10—20%igen Lösungen anderer Alkalien usw. Sofort gelöst wird es unter anderem in konzentrierter Salzsäure. In Essigsäure in Konzentrationen von 1—50% wird es ziemlich unverändert zur Fällung gebracht. Die Nucleolen leisten allen Mitteln, in denen die Chromatinsubstanz quillt, Widerstand. In 1—50%iger Essigsäure quellen sie auf, ohne in Lösung überzugehen.

Die Feststellungen dieser Autoren konnten jedoch nicht für jede Kernart maßgebend sein, weil damals nur Stoffe einer Art (»Chromatin«) bekannt waren bzw. von ihnen vorausgesetzt wurden, und sie an die Möglichkeit, daß generell verschiedene Körnchen vorhanden sein könnten, überhaupt nicht gedacht hatten. Ein weiterer Mangel der damaligen Untersuchungsmethoden war, daß man viele Beobachtungen nur an konserviertem Material angestellt hat; und gerade dieselben Autoren

hatten feststellen können, daß die Eigenschaften der Kernelemente durch jede Konservierungsflüssigkeit stark verändert werden. Bei den Versuchen am Lebenden aber war die Frage, ob eine Membran vorhanden ist oder nicht, allzusehr außer acht gelassen worden. Für den Fall ihres Vorhandenseins war einfach vorausgesetzt worden, daß sie für die angewandten Reagentien durchlässig sei. Ebenso hatte man stillschweigend eine Möglichkeit allseitiger Diffusion für die etwa gelöste Substanz der Strukturteile angenommen. Beides aber ist an sich unsicher. Es muß in jedem Falle die Frage gestellt werden, 1) ob überhaupt etwas von dem Reagenz einzudringen vermag, 2) ob es, wenn dies möglich ist, überall hingelangen kann, und 3) in welcher Konzentration dies geschieht. Dann muß besonders darauf geachtet werden, ob sich das etwa Gelöste in der Umgebung ausbreitet, und ob es endlich durch die Membran nach außen gelangen kann. — Da aber zur Lösung dieser Fragen Lebendbeobachtungen, wegen des geringen Brechungsunterschiedes der beeinflußten Kernteile, nicht ausreichen, wäre es notwendig, die Konservierung nach dem Versuch zur Ergänzung und zum Vergleich heranzuziehen. Indem durch sie optische Unterschiede vergrößert werden, können z. B. ungelöste Reste der fraglichen Körnchen und anderer Strukturteile klar sichtbar werden. Da ein solcher ungelöster Rest ja von anderer Beschaffenheit sein muß als der weggelöste Teil des Korns, so kommt es oft vor, daß er in seiner Lichtbrechung dem umgebenden Medium am Lebenden sehr angenähert ist. Ebenso kann eine bloße Quellung die ganzen Körner schon unsichtbar machen; die Konservierung erlaubt uns auch dann, unter Umständen, eine solche von völliger Lösung zu unterscheiden. — Aber über diese Hauptfrage, ob eine Lösung der Körnchen stattgefunden hat, wird sich auch bei dieser kombinierten Methode nur unter der Voraussetzung, daß die gelöste Substanz der Granula durch die Umgebung wegdiffundieren kann, etwas Sicheres erfahren lassen. Anderenfalls ist oft wohl kaum zu entscheiden, ob wirklich etwas gelöst war oder nicht, da die Konservierungsflüssigkeit künstlich Gelöstes ebenso niederschlägt, wie die Stoffe aus natürlichen Lösungen, und das gelöste Korn, unter Umständen in alter Größe, wiederherstellt. Leicht kann so der Anschein der Unlöslichkeit erweckt werden. Ebenso wird das konservierte Bild sehr verschieden ausfallen, je nachdem der Kern von der gelösten Substanz verlassen wird oder nicht. Im ersten Fall sind keine Körnchen von der alten Beschaffenheit mehr im Innern zu erwarten und das Ganze muß ein diffuses Aussehen zeigen; im anderen kann z. B., bei Voraussetzung allseitiger Diffusion der gelösten Substanz, eine gleichmäßig verteilte feine Körnelung auftreten. Sehr leicht können aber solche

Ausfällungen für vor dem Versuch vorhandene Strukturteile gehalten werden. Wieweit derartige Möglichkeiten etwa früher in Betracht gezogen wurden, geht aus den Angaben älterer Autoren nicht mit Gewißheit hervor.

3) Mit Beachtung dieser Schwierigkeiten angestellte Versuche haben aber dann den großen Vorteil, daß sie umgekehrt gleich ein Prüfungsmittel für den Zustand des Kernsaftes und die Beschaffenheit der Membran abgeben. Erscheinen nämlich z. B. die Körnchen nach der Konservierung an der alten Stelle wieder, so ist darin ein Beweis für eine viscöse bis gelatinöse Beschaffenheit der Grundsubstanz gegeben, sofern vorhergegangene Lösung sicherzustellen ist. Sind die Körnchen dagegen, nach der Ausfällung, nicht wieder am ursprünglichen Ort, so muß für die Grundsubstanz ein mehr oder weniger flüssiger Charakter angenommen werden; denn die gelöste Körnchensubstanz, d. h. alle in Frage kommenden chemischen Körper, hat zweifellos selbst kolloiden Charakter und würde durch ein kolloides Gel in ihrer Ausbreitung völlig gehemmt werden. Erscheinen aber körnige Ausfällungen von anderer Beschaffenheit wie früher, und gleichmäßig im Kerninnern verteilt, so kann dies ein Zeichen dafür sein, daß die Membran für das angewandte Lösungsmittel, nicht aber für das Gelöste, durchlässig war. Hierbei muß allerdings auch die Wirkung des Fällungsmittels berücksichtigt werden, das durch Entmischung der veränderten Grundsubstanz eventuell Körnchen erzeugen könnte; und zwar mag seine Wirkung je nach dem fällenden Reagenz verschieden sein.

4) Da bei den Reagentienversuchen auch die Nucleolen eine Änderung erfahren, wie schon Carnoy und andere gefunden haben, so tritt zu den obigen Fragen auch noch das alte Problem der »Nucleolarsubstanz«. Carnoy setzte nur eine solche Substanz voraus, obgleich schon Flemming, ebenso O. Hertwig u. a., in vielen Kernen gleichzeitig zwei in ihrem Verhalten verschiedene Arten von Nucleolen gefunden hatten. Danach ist aber die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, daß vielleicht zwei oder mehrere voneinander verschiedene Nucleolarsubstanzen vorkommen, — statt der gewöhnlich angenommenen einen, die nach der Meinung vieler Autoren durch verschiedengradige Mischung mit Chromatin jene abweichenden Nucleolentypen ergäbe. Bei einer Untersuchung hierüber müßte daher, neben dem Verhalten der Nucleolen an sich, besonders auf das differenter Typen, bzw. der Doppelnucleolen, geachtet werden.

Bei der Ausführung derartiger Versuche ist es ohnehin zweckmäßig, alle Strukturteile des Kernes zu beobachten, da ein Versuch geeignet ist, gleichzeitig über alle Teile gewisse Aufschlüsse zu geben.

Auf Grund solcher Erwägungen veranlaßte mich mein verehrter

Lehrer, Herr Professor Brüel, die vorliegende Arbeit zu unternehmen, die unter seiner Leitung ausgeführt wurde. Für die mir beständig dabei gewährte Unterstützung und Förderung bin ich ihm zu großem Danke verpflichtet. Ebenso spreche ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Haecker, dem Direktor des Zoologischen Instituts, für seine Hilfe und das meiner Arbeit entgegengebrachte rege Interesse meinen besten Dank aus[1]).

II. Methodischer Teil.

1) Auswahl der Kerne.

Bei der Auswahl der Kerne kam es darauf an, die gegensätzlichen Haupttypen herauszugreifen. Es mußten also einerseits Kerne mit Netzknoten und »Oxychromiolen« zur Untersuchung herangezogen werden, andererseits solche, in denen gefärbte Präparate anscheinend nur Chromatinkörnchen erkennen lassen. Die konservierten Kernbilder der Amphibien zeigen uns am klarsten das erste Verhalten, während bei vielen Wirbellosen von Oxychromiolen mindestens zunächst nichts zu sehen ist. Da im Keimbläschen die Verhältnisse wieder anders liegen, ja ihm in manchen Zuständen Chromatinkörner und Oxychromiolen beide zu fehlen scheinen, wenigstens im Leben das Keimbläschen vielfach nichts davon zeigt, schien es notwendig, auch diese zum Vergleich zu benutzen. Bei der Kernwahl mußte außerdem auf leichte Zugänglichkeit des Materials geachtet werden, derartig, daß die Zellen womöglich durch einen einzigen Griff herauspräpariert werden konnten. Dabei waren solche Tiere vorzuziehen, die häufig vorkommen und in genügender Anzahl das ganze Jahr über zu haben sind. Ferner war es zweckmäßig, Objekte mit möglichst großen Kernen zu verwenden, die eventuell durch Zerzupfen oder Ausstreichen des Gewebes isoliert werden konnten, was noch den Vorteil bietet, nebeneinander Kerne in und außerhalb der Zelle beobachten und vergleichen zu können. Am idealsten liegen natürlich die Verhältnisse, wenn bei Häufigkeit des Objektes und ziemlicher Größe der Kerne noch die Möglichkeit der Lebendbeobachtung am intakten Tier gegeben ist.

Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte erwies sich am geeignetsten:

a) Flemmings altes Objekt, Salamanderlarven, bzw. Tritonlarven,

---

[1]) Die Untersuchungen wurden bereits Ende 1913 abgeschlossen, die fertige Dissertation aber erst im Juli 1914 eingereicht. Da der Verf. unmittelbar nach der mündlichen Prüfung ins Feld rückte, verzögerte sich die Herstellung von Textfiguren usw. und damit der Beginn der Drucklegung bis zum Sommer 1915.

besonders letztere, da sie in größerer Menge zu beschaffen waren. Die Zellen bzw. Kerne sind zwar nicht gut isolierbar, doch war es gerade hier möglich, Kerne am sicher lebenden Tier zu studieren.

b) Die Speicheldrüse von *Limnaea stagnalis*. Die Kerne konnten trotz der Sekrettröpfchen gut beobachtet werden, indem sie, durch Zerzupfen des Gewebes, sehr leicht isolierbar sind. Daneben war eine Kontrolle durch Kerne im Zellverband genügend möglich.

c) Die Malpighischen Gefäße der Corethralarve. Lebendbeobachtungen am ganzen Tier sind hierbei allerdings nur mit schwacher Vergrößerung, wegen der Dicke des Objektes und der geringen Durchsichtigkeit, zu machen.

d) Die Eier von *Unio* und *Anodonta*, die wegen ihrer Häufigkeit und Größe sowie Isolierbarkeit des Keimbläschens vorteilhaft waren. Den Insekten- und Wirbeltiereiern wurden diese vorgezogen, weil sie im Leben nicht, wie jene, ganz strukturleer sind, sich also auch für meine Lösungsversuche eigneten. Weiter war es von Interesse, die Doppelnucleolen in ihrem Verhalten den Reagentien gegenüber zu prüfen.

2) Methode der Lebendbeobachtungen.

Um die Epithelkerne der Tritonlarven am vollkommen lebenden Tier untersuchen zu können, wurde folgendermaßen verfahren: aus Wachs wurde auf einem Objektträger ein Gehäuse verfertigt, so, daß das Ganze ungefähr das Aussehen eines Pantoffels hatte. Der Innenraum war so beschaffen, daß Kopf und Vorderkörper des Tieres bequem darin Platz finden konnten, und genügend Atemwasser zur Verfügung stand, doch darf der Raum nicht zu groß sein, da sonst die Larve nach der Seite ausweichen und sich umdrehen kann. Das Atemwasser wurde möglichst oft durch Zufließen erneuert und, damit genügend Wasser in der Höhlung war, der Objektträger mit vom Beobachter abgewandter Öffnung des Pantoffels gelegt und das Mikroskop um 30—40° geneigt. Wenn sich das Tier, nach dem Herausfangen aus dem großen Aquarium, im Urglase einigermaßen beruhigt hatte, wurde es durch Neigen des Glases kopfvor vorsichtig in das Gehäuse des bereit liegenden Objektträgers gleiten gelassen. Auf das äußerste Ende der herausragenden Schwanzflosse kam ein mit Wachsfüßchen versehenes Deckglas. Die Tiere blieben dann meist ruhig liegen, vorausgesetzt, daß sie von Druck und Erschütterung bewahrt waren. Nach kurzer Orientierung mit schwacher Vergrößerung wurde vorsichtig die Immersion (Apochromat 1,5 mm) eingestellt. Um ganz sicher zu gehen, daß die beobachteten Kerne durchaus lebend und normal waren, wurden nur solche ins Auge gefaßt, die in der Nähe von

Blutgefäßen lagen und bei Beginn einer etwaigen Stockung des Blutumlaufes der Versuch abgebrochen. Auch wurden nur Beobachtungen an Tieren benutzt, die sich nachher als völlig munter und ungeschädigt erwiesen. Über 10—15 Minuten sind die Versuche meist nicht ausgedehnt worden, da die Tiere entweder nicht länger ruhig liegen bleiben, oder Stockungen des Blutes beginnen.

Bei den Untersuchungen von *Limnaea* wurde die Schale des Tieres vorsichtig entfernt und mit einem raschen Schnitt durch den Kopf und vorderen Teil der Mantelhöhle Magen und Speicheldrüse freigelegt. Kleine Stückchen der Drüse wurden dann sofort entnommen, auf dem Objektträger in Körperflüssigkeit oder Ringerschem Gemisch zerzupft und unter dem umrandeten Deckglas mit der Immersion untersucht. Zur Ermittlung der besten Zusatzflüssigkeit wurden Vorversuche angestellt, die, wie ja zu erwarten war, eine Überlegenheit des Ringerschen Gemisches ergaben. Als Kriterium für die wirklich zuverlässigen Resultate dieser Lösung diente auch der Vergleich zwischen den im lebenden *Triton* beobachteten und in Ringer untersuchten *Triton*kernen, wobei sich in der zur Untersuchung nötigen Zeit von ungefähr 30 Minuten keine Änderung der in der Lösung befindlichen Kerne ergab (vgl. auch Textfig. 1).

Die Untersuchungen an den Kernen der Malpighischen Gefäße fanden hauptsächlich, nach Herauspräparieren, außerhalb des Körpers in Körperflüssigkeit oder Ringerschem Gemisch statt. Durch einen raschen Zug mit der Pincette, gelingt es leicht, den Enddarm mit den daranhängenden Gefäßen aus dem Körper herauszubringen. Bei den Beobachtungen in Ringerschem Gemisch empfiehlt es sich, die Larve vorher kurz mit Fließpapier abzutrocknen, da sonst das anhaftende Wasser die Stärke des Gemisches beeinflußt.

Die Muscheleier wurden ausschließlich in Ovarialflüssigkeit untersucht, da sich diese dafür am besten erwies. Abgesehen von den Beobachtungen am Strich- und Zupfpräparat, die wie gewöhnlich mit der Immersion angestellt wurden, machte ihre Größe es möglich, einzelne Keimbläschen unter dem Binocular zu isolieren und diese mit sehr spitzen Nadeln anzustechen. Außerdem konnten die isolierten Keimbläschen durch Strömungserregungen besonderer Art, die später geschildert werden sollen, zum Platzen gebracht werden. Von Nachteil waren aber dabei die unzureichende Vergrößerung des Binoculars und die umherschwimmenden Dotterkörner.

Bei allen Lebendbeobachtungen wurde das Deckglas mit Füßchen versehen und sofort umrandet. Besonderer Wert wurde auf möglichst schnelle Herstellung der Präparate und auf augenblickliche Beobachtung

gelegt. Durch die Verfolgung allmählicher Veränderungen und den Vergleich mit sicher lebenden Kernen (*Triton*) konnte festgestellt werden, daß Umwandlungen in der Kernstruktur meist erst nach längerer Zeit beträchtlich werden. Und da im sicher lebenden Tritonkern gerade die reichste Innenorganisation zu sehen war, konnte mit Sicherheit angenommen werden, daß auch das Wenigere, was die andern zeigten, dem lebenden Bild entsprach.

3) Lösungsversuche.

A. Auswahl der Reagentien.

Bei der Auswahl der Reagentien lag es nahe, solche zu benutzen, die auch Carnoy, Zacharias u. a. zu ihren Versuchen gedient hatten, da ihre Resultate dann als Grundlage benutzt und vergleichsweise herangezogen werden konnten. Diese Autoren haben ganz folgerichtig Lösungsmittel für Nucleoproteide durchgeprüft, weil dies die einzige chemisch charakterisierbare Substanz war, die man im Zellkern kannte; und zwar benutzten sie: Wasser, starke Mineralsäuren, Alkalien, kohlensaure Alkalien und manche Neutralsalze z. B. Kochsalz. Es galt nun, aus denselben Klassen von Lösungsmitteln je eins (oder zwei) herauszugreifen, und zwar nur solche, die auch den Autoren dazu gedient hatten, mit Berücksichtigung aber ihrer Eindringungsfähigkeit, die empirisch festzustellen war. Folgende Reagentien wurden danach ausgewählt:

1) Destilliertes Wasser,
2) Konzentrierte Salzsäure,
3) Ammoniak 5%,
4) Natriumcarbonat 10%,
5) Kochsalzlösung 10%.

Bei konzentrierter Salzsäure ist ein Eindringen an der Heftigkeit ihrer Wirkung ohne weiteres zu erkennen, für destilliertes Wasser anzunehmen, da es ja durch alle tierischen Membranen geht. Für Ammoniak mit seiner z. B. von Warburg festgestellten Durchdringungsfähigkeit dürfte ein Eindringen an sich nicht zu bezweifeln sein. Es wurde neben Natriumcarbonat, von dem an sich eine ähnliche Wirkung zu erwarten war, benutzt, weil dessen Eindringen nach Warburg zweifelhaft war. Wenigstens fand dieser bei seinen Versuchen am Seeigelei, daß NaOH nicht in das Ei eindringt, also wohl die Na-Ionen nicht hineingelangen können. Wie sich nun dort trotzdem eine Wirkung des NaOH im Ei bemerklich macht, so könnte auch hier die beobachtbare Wirkung des Natriumcarbonats indirekt bzw. durch Hydroxyl-Ionen allein verursacht sein. Aus dem genauen Vergleich der Wirkung des Ammoniaks im Kern, mit

der des kohlensauren Alkalis, ist es aber möglich, ein Eindringen des Natriumcarbonats mit Wahrscheinlichkeit zu erschließen. Nachdem dann hier ein Eintreten der Na-Ionen in manche Kerne festgestellt schien, konnte auch Kochsalz herangezogen werden, denn es ist wenigstens kaum anzunehmen, daß die Cl-Ionen das Eindringen hemmen, wenn die Na-Ionen hineingehen, um so weniger als sie bei der Salzsäure hineingelangten. Außerdem bewiesen »plasmolytische« Erscheinungen im Kern (s. S. 318) die Durchdringbarkeit wenigstens der »Membran« gerade beim Kochsalz. Sollte aber wirklich nicht bei allen Reagentien die Lösung ungeändert an den Lösungsort gelangen, so bleibt der Vergleich der einzelnen Kerne, der unser Hauptzweck ist, doch instruktiv.

B. Versuchsanordnung.

Die Lösungsversuche an den einzelnen Kernen wurden hauptsächlich unter dem Mikroskop ausgeführt, und zwar so, daß die Flüssigkeiten auf der einen Seite des mit Füßchen versehenen Deckglases zugesetzt und auf der anderen abgesaugt wurden. Auf diese Weise fand ein langsames kontinuierliches Fließen statt. Die Beobachtungen wurden so angestellt, daß von den in Körperflüssigkeit oder Ringerschem Gemisch liegenden normalen Kernen, einer mit dem Apochromat 1,5 mm 5—10 Minuten studiert und skizziert wurde. Darauf wurde das betreffende Reagenz langsam zufließen gelassen und die Wirkung desselben auf den Kern sofort und bis zu einer halben eventuell bis zu einer Stunde dauernd verfolgt. Die sofortigen Änderungen oder Nichtänderungen, ebenso die nach $^1/_4$, $^1/_2$ und 1 Stunde wurden vermerkt. Nach 1 Stunde wurden die kontinuierlichen Beobachtungen gewöhnlich abgebrochen, das Präparat aber (wenn möglich derselbe Kern) nach 3, 6 und ungefähr 24 Stunden nochmals untersucht, und die inzwischen eingetretenen Veränderungen wieder festgelegt. Andere Präparate wurden in denselben Zeitabständen mit 3%iger Essigsäure, Zenker, 96%igem Alkohol, Sublimat-Alkohol-NaCl konserviert, nachdem sie in der gleichen Weise bis dahin beobachtet worden waren. Es gelang häufig, denselben Kern so nacheinander frisch, beeinflußt und dann konserviert zu betrachten. Die verschiedenen Konservierungsflüssigkeiten wurden angewandt, um die Wirkung der einzelnen beim Niederschlagen kennen zu lernen. Die Konservierungsflüssigkeiten, destilliertes Wasser, Farbstoffe usw. wurden unter dem Deckglas durchgesaugt. Daneben wurden zur Kontrolle kleine Stückchen desselben Materials im Tubus mit dem betreffenden Reagenz behandelt und ebenfalls in Zeiträumen von $^1/_4$, $^1/_2$, 1, 3 und 24 Stunden mit Zenker, Flemmingschem Gemisch, Herrmannscher Flüssigkeit, Pikrinsalpetersäure, Sublimat-Alkohol + NaCl konserviert und ge-

schnitten. Die Kerne dieser, mit Haematoxylin Delafield, Haematoxylin Heidenhain, Safranin oder Haematoxylin Del. + Safranin gefärbten Schnittpräparate wurden dann untereinander und mit den dazu gehörigen, unter dem Mikroskop angestellten Beobachtungen verglichen.

Diese ausgedehnten Beobachtungen nach abgestuften Zeiträumen sind deshalb unternommen worden, weil wir nichts Sicheres über die Diffusionsgeschwindigkeiten der gelösten Strukturteile wissen. Wenn nur das Eintreten der Lösungsflüssigkeit gehemmt wäre, würde es ja genügen, die Objekte in der betreffenden Flüssigkeit längere Zeit zu lassen, und dann die Veränderungen festzustellen. Wenn aber die Verhältnisse des Kerninnern kein einfaches Wegspülen der gelösten Substanz, etwa beim kräftigen Durchsaugen der Lösungsflüssigkeit, gestatten, so bleibt nur Diffusion übrig, um das Gelöste nach außen zu befördern. Im letzten Fall wird eine nur allmähliche Verminderung der gelösten Substanz, eventuell bis zum vollständigen Verschwinden, erfolgen können, was sich erst nach einem Intervall von vorher unbestimmbarer Dauer (in jedem Fall anderer) bemerkbar machen wird. Ist nun nach einiger Zeit, vielleicht nach mehreren Stunden, noch keine kenntliche Verminderung eingetreten, so ist damit so wenig wie Unlöslichkeit eine Undurchlässigkeit bewiesen, da Verminderung später ja immer noch deutlich werden kann. Durch eine kontinuierliche Verfolgung der Vorgänge läßt sich andererseits zum Teil feststellen, ob an einem späteren Austreten des Gelösten eine durch die Lösungsflüssigkeit hervorgerufene letale Veränderung der Permeabilität, oder die natürliche z. B. viscöse Beschaffenheit des Kernsaftes die Schuld tragen.

Wenn eine Verminderung, infolge zu schwacher Lichtbrechung der gelösten, bzw. gequollenen Substanz aber im Leben nicht nachgewiesen werden kann, so ist uns, wie schon in der Einleitung erörtert, durch die Konservierung der verschieden lange behandelten Kerne ein Mittel an die Hand gegeben, durch das sie zu jeder Zeit geprüft werden kann. In den konservierten Präparaten wird eine Verminderung des Gelösten in einer solchen der Niederschläge zum Ausdruck kommen. Ein Vergleich zwischen den lebenden Lösungsbildern und den konservierten Präparaten erlaubt schließlich auch einen Schluß auf den Lösungsgrad der Strukturteile, sowie auf die Diffusionsverhältnisse im Kerninnern und in der Membran (s. Einleitung 2 und 3).

III. Untersuchungen.

Wir wollen nun zunächst Kern für Kern durchsprechen; zuerst in jedem Fall stets die Lebendbeobachtungen und daran anschließend die einzelnen Reagentienversuche.

A. Limnaea stag.

1) Lebendbeobachtungen am Kern der Speicheldrüse.

Die beim Zerzupfen der Speicheldrüse freigewordenen Kerne schwimmen meist über den Sekrettröpfchen der Drüse und sind leicht zu beobachten. Die im Zellverband eines Drüsenfollikels liegenden sind etwas schwieriger zu sehen, da das Sekret störend wirkt, doch nicht in dem Umfange, daß ein sicheres Erkennen verhindert wird. Bei allen Beobachtungen waren in den Kernen abgesehen vom Nucleolus stets noch andere Inhaltskörper wahrzunehmen, auch auf Präparaten, die so rasch als möglich hergestellt und angesehen worden waren. Da nun diese Inhaltskörper den sogenannten Chromatinkörnchen der konservierten gefärbten Präparate nach Lage und Zahl entsprachen, so mögen sie auch fortan als solche bezeichnet werden. Es handelt sich hierbei fraglos um isolierte, durch ihre stärkere Lichtbrechung scharf von der Umgebung abgesetzte Körner und nicht wie von Flemming und anderen angenommen wurde, um die optischen Durchschnitte eines Netzwerkes. Die Gestalt der Chromatinkörnchen war stets, soweit sich dies feststellen ließ, mehr oder weniger rund und die Größe unter sich annähernd gleich. In einigen Kernen lagen sie stets in gleichen Abständen im Innern verstreut, in anderen dagegen war eine gewisse Anordnung festzustellen. So konnte man zuweilen perlschnurartige Reihen beobachten, die mit dem einen Ende am Nucleolus ansetzten und mit dem anderen an der Peripherie des Kernes endigten. Oder die Anordnung war unregelmäßiger, die Körnchen lagen dann an besonderen von Fall zu Fall wechselnden Stellen scharenweise zusammen, sie bildeten »Körnerinseln«.

Fig. 2.
a—c frisch, d konserviert.

Wenn wir z.B. den in Fig. 2a der Tafel XV (ähnlich auch Textfig. 2a) dargestellten Kern ansehen, so können wir in ihm an zwei Stellen eine perl-

schnurartige Anordnung unterscheiden, wobei gewöhnlich ein Körnchen hinter dem anderen liegt; so entsteht je eine Reihe, die vom Nucleolus nach dem Kernrand verläuft. Zwischen den einzelnen Körnchen ist ein deutlicher Abstand, von Verbindung der Körnchen untereinander, durch Fäden etwa, ist nichts zu sehen. An manchen Stellen der Schnur liegen die Granulas nicht nur hintereinander, sondern auch nebeneinander. Um den Nucleolus ist, wie dies bei den meisten Kernen vorkommt, eine Ansammlung der Körnchen zu sehen, während andere Stellen des Kernes vollständig körnchenfrei sind. Links unten liegt ein kleiner Brocken, der nach der Konservierung chromatische Färbung annahm, und sich bei Lösungsversuchen in entsprechenden Kernen auch wie das Chromatin verhielt (Caryosom?). Im Kern der Fig. 2b Taf. XV liegen die Körnchen weniger in Reihen angeordnet, sondern in breiten Feldern nebeneinander, besonders wieder in der Nähe und um den Nucleolus. Auch hier befinden sich dazwischen Stellen, die völlig körnchenfrei sind. Der Kern der Fig. 2c zeigt eine regelmäßigere Verteilung der Chromatinkörnchen als die beiden ersten. Hier sind wieder deutlich Reihen zu unterscheiden und außerdem ein Anhängen der Körnchen an den Nucleolen. Fig. 2d Taf. XV zeigt ein ähnliches Bild, doch sind hier größere körnchenfreie Zonen vorhanden, außerdem ist ein feines, eben sichtbares Fädchen bemerkenswert, dem aber nur wenige Chromatinkörnchen anhängen. Derartige Fädchen wurden nur selten gefunden. Bei dem Kern der Fig. 2e kann von einer Anordnung der Granula nicht gesprochen werden, da die Verteilung ziemlich regelmäßig ist. An den Nucleolen, einem größeren unregelmäßig gestalteten und zwei kleineren, sehen wir wieder einige Körnchen anhängen, am größeren mehr, an den kleineren weniger. Das Bild Fig. 2f ist ähnlich dem des Kernes der Fig. 2a, unterscheidet sich aber von allen den vorhergehenden durch die eine Körnchenreihe, bei der ziemlich regelmäßig zwei Körnchen nebeneinander liegen[1]). Der Kern der Fig. 2g ist dem in Fig. 2c dargestellten ähnlich.

Vergleichen wir damit nun die Kernbilder des konservierten und gefärbten Materials, so finden wir fast in allen Kernen kürzere oder längere Fädchen, Fig. 3 Taf. XV, die in manchen ein regelrechtes Netz bilden, Fig. 4 Taf. XV, an dem die Chromogranula anhängen. Bei Konservierungen mit Flemmingschem Gemisch ist dagegen von einem Netzwerk nichts zu sehen. Die Chromatinkörnchen selbst zeigen meist Unterschiede in der Größe, wie in Fig. 4 u. 4a Taf. XV

[1]) Es sei hier gleich erwähnt, daß keine Mitosen in den Drüsen gefunden wurden.

zu sehen ist. Neben solchen von der Größe der in den lebenden Kernen vorkommenden finden sich hier oft noch bedeutend kleinere Körnchen. Ob diese durch Niederschlagung aus der Grundsubstanz dazugekommen, oder ob es durch die Konservierungsflüssigkeit geschrumpfte Chromatinkörnchen sind, würde sich durch vorhergehende Zählung der Körnchen im lebend beobachteten Kern ermitteln lassen. Da die Granula dort aber nur geringe Lichtbrechung besitzen und sich außerdem in Brownscher Bewegung, auf die gleich näher eingegangen werden wird, finden, ist es nicht möglich, ihre Zahl so genau, als nötig wäre, festzustellen. (Die Zahl der Mittelebene eines Kernes läßt sich eher bestimmen, aber auch nur ungefähr, sie beträgt bei den Kernen der Fig. 2a—g Taf. XV im Durchschnitt 86[1].) Manche Stellen des Kerninnern sind vollkommen ungefärbt und körnchenfrei, an anderen ist ein schwachgefärbter Substanzschleier vorhanden, der im Leben unsichtbar ist.

Nun fragt sich, wieweit die eben geschilderte Körnchenverteilung im Einklang mit der Gerüstvorstellung steht. Ein starkes Argument für ein Kerngerüst wären einmal die Bilder eines Teils der konservierten Kerne, das andere Mal die reihenweise Anordnung eines Teils der Chromatinkörnchen in den lebend beobachten Kernen. Ganze derartige Körnchenreihen können in Schwingung geraten, allerdings nicht beim normalen Kern, sondern nach Reagentienwirkung. Wir haben es demnach dann sicher mit Fadenstrecken zu tun und nicht, wie etwa angenommen werden könnte, mit Spalten der Grundmasse, in denen die Körnchen reihenweise angeordnet liegen. Es fragt sich nur, ob diese Fädchen nicht schon der Anfang einer Erstarrungsschrumpfung sind. Es könnte nämlich in diesen Kernen die Erstarrung an einzelnen Strecken ihren Anfang nehmen und die erstarrten Balken könnten nachher zu Fädchen zusammenschrumpfen. — Auf diese Annahme wäre später zurückzukommen. — Nun sehen wir aber, wie gesagt, schon im Lebenden zwar keine Fädchen, aber Reihen von Körnern. Daß es sich hier schon um Artefakte handeln könnte, ist sehr unwahrscheinlich, da auf schnelle Herstellung der Präparate der größte Wert gelegt wurde. Außerdem müßten diese Reihen dann, nach einiger Zeit, in fast allen Kernen auftreten, was nicht der Fall ist. Da eine solche Lagerung der Körnchen auch nicht auf Zufall beruhen kann, weil ein erheblicher Prozentsatz sie zeigt, muß wohl etwas anderes vorhanden sein, das diese Anordnung veranlaßt. Für eine Reihenbildung durch genetische Zusammenhänge liegen keine Gründe vor. Am wahr-

1) Körnige Gerinnungen, welche durch Reagentienwirkung aus dem Kernsaft entstehen können, werden schon von Flemming beschrieben, es ist daher wahrscheinlich, daß die fraglichen kleineren Körnchen auf diese Weise zustande gekommen sind.

scheinlichsten bleibt also die Existenz von Fäden oder fadenartigen Verdichtungen der Grundsubstanz des Kernes.

Eine andere Frage ist es, ob diese mit dem Netzwerk, wie es manche konservierte Kernbilder zeigen und wie es deshalb meist als bestehend angenommen wird, in ihrer Lagerung bzw. in ihrer Substanzmenge identisch sind. Wenn sie Teile eines solchen Netzes, mit engen Maschen und Verknotungen, wären, so würde ein starkes Hin- und Herschwingen nicht möglich sein. Ebenso spricht die individuell verschiedenartige Verteilung der Körnchen in den oben beschriebenen Kernen sehr dagegen, besonders in Fig. 1f Taf. XV die Körnchendoppelreihen, und Fig. 1b, wo neben Körnerinseln größere vollständig körnchenfreie Partien vorhanden sind. Ein starker Beweis gegen ein geschlossenes Netzwerk, dem alle Chromogranula anhängen, ist schließlich auch die Brownsche Bewegung der Körnchen.

An den Chromatinkörnchen zeigen sich nämlich eigentümliche Bewegungserscheinungen, die 1827 von dem englischen Botaniker R. Brown an Pflanzenpollen, der in Wasser suspendiert war, entdeckt und in der Folge bekanntlich nach ihm benannt worden sind. Die Körnchen führen eine zitternde und rotierende Bewegung am Ort aus, die auch eine einseitig gerichtete Form annehmen kann, dabei erfolgt sie nicht nur in einer Ebene, sondern nach allen Richtungen des Raumes hin (Textfig. 3). Hauptsächlich trat aber nur die zitternde rotierende Bewegung auf, und zwar fanden sich auf demselben Präparat nebeneinander Kerne mit lebhafter und solche mit schwächerer Bewegung. Die in Reihen liegenden Körnchen waren dabei stets in Ruhe.

Fig. 3.

Nach den bekannten physikalischen Bedingungen der Brownschen Bewegung müssen ja nun die Bewegungen kleiner Teilchen um so intensiver sein, je kleiner sie sind, solche von über 4 μ Durchmesser zeigen die Erscheinungen nicht. Teilchen von 1 μ Durchmesser erleiden bereits Verschiebungen von 1 μ. Andererseits ist die Bewegung abhängig von der Zähigkeit des Einschlußmittels, was mit Sicherheit einen Rückschluß auf die Grundsubstanz zuläßt. Wenn nämlich an körnigen Einlagerungen von entsprechender Größenstufe eine oszillierende Bewegung wahrzunehmen ist, so müssen sich jene Körner in einem flüssigen Medium befinden, sind sie dagegen bewegungslos, so ist das Medium ein Gel oder mindestens sehr viscös.

Wir finden nun die Nucleolen, als über 4 μ messend, in der Tat stets in Ruhe, die Bewegungsintensität der Körner nach ihrer Größe abgestuft. Die physikalischen Eigentümlichkeiten des Phänomens also in der hier beobachteten Erscheinung alle bewahrheitet. Wir dürfen daher die Bewegung als Brownsche ansehen und gelangen so zu dem sicheren Rückschluß, daß in solchen Fällen die Grundsubstanz der Kerne flüssig ist. Und andererseits, daß die Granula keinem geschlossenen Netzwerk eingefügt sein können.

In destilliertem Wasser trat, wie schon hier gesagt sei, nach einiger Zeit eine Steigerung der Bewegung auf, was also ein allmähliches Flüssigerwerden der Grundsubstanz beweist.

Die Nucleolen sind durch starkes Lichtbrechungsvermögen ausgezeichnet und daher leicht zu sehen. Sehr häufig sind sie vollkommen rund oder elliptisch und enthalten eine, seltener mehr Vacuolen (Fig. 1 Taf. XV). Der Durchmesser beträgt, wie erwähnt, im Mittel ungefähr 4 μ. Meist einer, können in einem Kern auch zwei gleichgroße, ein größerer und ein kleinerer, drei ungefähr gleichgroße, ein großer und zwei kleinere, bisweilen, aber selten, auch mehr Nucleolen vorkommen.

Darüber, ob der lebende Kern eine Membran besitzt, war bei diesen Untersuchungen nichts auszumachen.

Die Gestalt der Kerne war meist regelmäßig rund oder auch elliptisch. Weniger häufig traten Kerne auf mit unregelmäßiger Gestalt, die wahrscheinlich auf Schrumpfung eventuell auch auf Verletzung zurückzuführen ist. Für die zur Untersuchung herangezogenen Kerne schwankte, sofern sie rund waren, der Durchmesser zwischen ungefähr 8—30 μ.

Eine eigentümliche Erscheinung an ganz oder teilweise außerhalb des Zellverbandes, in Zellflüssigkeit oder Ringerschem Gemisch liegenden Kernen war das allmähliche Auftreten von einer, bisweilen auch mehreren kuppelförmigen Vorwölbungen an irgendeiner beliebigen Stelle. (Fig. 5 Taf. XV.) Ursprünglich war bei schwächerer Vergrößerung nur ein rundes Loch in der »Membran« zu konstatieren, und die Kerne schienen eine Einstülpung zu besitzen. Erst bei näherer Untersuchung und Benutzung des Apochromaten 1,5 mm konnte das Vorhandensein dieser, wie Blasen aussehenden Gebilde festgestellt werden. In denselben war kein sichtbarer Inhalt wahrzunehmen, es gelang auch nicht, durch Druck auf das Deckglas Chromatinkörnchen etwa hineinzupressen, ebensowenig gelang es, durch Druck die Blase wegzubringen. Die Zeit, nach der sie auftraten, war ziemlich verschieden. Während einige Kerne schon bald nach der Herstellung des Präparats solche zeigten, traten sie bei anderen erst später auf. Wieder andere besaßen selbst nach Stunden keine. Der

Durchmesser eines Kernes, der allmählich zwei Blasen bekam, ging von ungefähr 19 auf 17,5 μ zurück.

Da der Gedanke an osmotische Druckwirkung verbunden mit ungleichmäßiger Resistenz der Membran nahelag, wurden Versuche mit wechselndem Salzgehalt der künstlichen Flüssigkeit angestellt. Die Blasen traten dabei auch an den in 0,7, 0,6 und 0,5%igem Ringerschem Gemisch, 1,5 und 0,7%iger Kochsalzlösung und in verdünntem Hühnereiweiß[1]) liegenden Kernen auf. In 1,5%iger Kochsalzlösung waren sie jedoch schwächer. Bei Zusatz von destilliertem Wasser wurden die Blasen deutlich größer.

Das Erscheinen der Blasen schien demnach wirklich durch osmotische Druckwirkung verursacht.

Wie wir nun sehen werden, dringen die meisten in Betracht zu ziehenden Salze ohne weiteres durch die lebensfrische Kernoberflächenschicht. Man muß also entweder annehmen, daß durch die Isolierung von Kernen die Membranverhältnisse geändert werden können; oder auch an Entmischung anderer Substanzen von genügendem osmotischem Wert, für welche die Membran impermeabel ist, im Kerninnern denken. Für unsere Beurteilung hier ist es aber besonders wichtig, daß nicht an allen isolierten Kernen die Veränderung geschieht.

2) Lösungsversuche.

a) Wirkung des destillierten Wassers.

Bei Zusatz von destilliertem Wasser zu den unter Deckglas in Körper- oder Ringerscher Flüssigkeit liegenden Speicheldrüsenkernen schrumpfen diese momentan, um darauf ziemlich beträchtlich zu quellen. Die Chromatinkörnchen quellen ebenfalls und verschwinden in einigen Kernen ganz, in anderen sind wenige schwach lichtbrechende Körnchen nach Stunden noch wahrzunehmen, auch wenn destilliertes Wasser kontinuierlich durchgesaugt wird.

In einigen Kernen eines Präparates, das umrandet gelegen hatte, war nach 6 Stunden, bei einem anderen nach 18 Stunden, regelmäßige feinkörnelige Ausfällung eingetreten. In direkt daneben liegenden Kernen dagegen war keine Ausfällung erfolgt. Bei Konservierung der beeinflußten Kerne nach kurzer Zeit, oder innerhalb der ersten 3 Stunden, erscheinen die Chromatinkörnchen wieder in alter Größe und an der

[1]) Das Hühnereiweiß war mit 0,7prozentiger Kochsalzlösung verdünnt worden, in Verhältnissen von

1 Teil Eiweiß zu 1 Teil 0,7%. Kochsalzlösung,
1 Teil Eiweiß zu 2 Teilen 0,7%. Kochsalzlösung,
1 Teil Eiweiß zu 4 Teilen 0,7%. Kochsalzlösung.

früheren Stelle. Die Zahl der in der Mittelebene der Kerne liegenden Granula ist, soweit es sich feststellen läßt, dieselbe geblieben wie vorher. Nach 6stündiger und längerer Behandlung mit destilliertem Wasser treten dagegen nach der Konservierung in manchen Kernen neben Körnchen in alter Größe (Chromogranula) kleinere, regelmäßig im Kerninnern verteilte Granula auf, die dieselben Farben wie die Chromatinkörnchen annehmen. In einigen Kernen sind diese kleinen Körnchen sehr zahlreich, in anderen daneben liegenden, gleichlang behandelten, scheinen sie weniger häufig zu sein, doch verhält sich, wie bereits erwähnt, nur ein Teil der Kerne so.

Zum größten Teil ist also in den Kernen, durch die Konservierung, die Quellung einfach zurückgegangen und die Chromogranula sind an ihrer alten Stelle wieder erschienen. In den übrigen Fällen dagegen hat das destillierte Wasser eine mehr oder weniger starke Änderung hervorgerufen. Da die Körnelung hier dichter und regelmäßiger den Kernraum erfüllend auftritt, und die meisten Körnchen kleiner sind als die Chromatinkörnchen, könnte in den betreffenden Kernen auf die Quellung eine Lösung gefolgt sein. Sehr wahrscheinlich hat aber auch eine Ausfällung (Entmischung) aus der veränderten Grundsubstanz durch die Konservierungsflüssigkeit stattgefunden.

Die Nucleolen sind in allen Fällen nach der Beeinflussung mit destilliertem Wasser noch zu sehen, in manchen Kernen aber nur wenig lichtbrechend. Nach der Konservierung war entweder am Nucleolus keine Änderung wahrzunehmen, oder er war von einem hellen Hof umgeben, außerhalb dessen alle ihm vorher aufliegenden Chromogranula in einem bestimmten gleichmäßigen Abstand lagen. Es deutet dies entweder auf eine Quellung des äußeren Teiles oder auf eine vollständige Quellung des Nucleolus vor der Konservierung hin.

Das Volumen eines mittleren Kernes wurde durch die Quellung in Wasser um ungefähr $1^1/_3$ größer. Bei der Konservierung schrumpfen die Kerne wieder, nach kürzerer Wasserwirkung weniger, nach längerer mehr, dabei kommt es vor, daß die Schrumpfung gleichlang behandelter Kerne verschieden stark ist.

Auf Kontrollschnitten von Drüsenstückchen, die im Tubus in destilliertem Wasser gelegen hatten und in Abständen von 1, 3, 24 und 48 Stunden konserviert worden waren, fanden sich ähnliche Verhältnisse wie die eben beschriebenen. Nach einstündiger Behandlung mit destilliertem Wasser waren auf den Schnitten dreierlei Kerne zu sehen. Erstens solche, die noch ziemlich normales Aussehen hatten; diese waren aber wenig zahlreich vertreten. Zweitens geschrumpfte Kerne mit heller

ungefärbter Grundsubstanz zwischen den einzelnen Chromatinkörnchen (Fig. 6 Taf. XV). und drittens stark geschrumpfte Kerne mit gleichmäßig diffus gefärbtem Kernplasma dazwischen. Um die meisten Kerne, auch um die wenig geschrumpften war ein von Zellplasma freier ungefärbter Hof, ein Zeichen einer Quellung der betreffenden Kerne vor der Konservierung. Die Nucleolen liegen in einem ähnlichen körnchenfreien Hof, wie dies oben schon beschrieben ist.

Die Kernbilder von Drüsenstückchen, die bis zu 3 Stunden in destilliertem Wasser gelegen hatten, zeigen keine nennenswerten Unterschiede von den eben beschriebenen. Von Wichtigkeit ist vielleicht, daß die geschrumpften Kerne am häufigsten in der Mitte der Schnitte liegen, während die am Rande ziemlich normal gebaut sind.

Nach einer Behandlung der Kerne mit destilliertem Wasser bis zu 48 Stunden (im Tubus), zeigen sie auf den Schnitten außer starker Schrumpfung sehr unregelmäßige Gestalt. Um die meisten Kerne ist hier wieder ein von Zellplasma freier heller Hof. In einigen liegen die Körnchen in einer schwachgefärbten Grundsubstanz, in anderen, zuweilen dicht danebenliegenden, in einer sehr stark gefärbten. In manchen Kernen ist ein Wabenwerk sichtbar. Über die Zahl und Größe der Chromatinkörnchen gegenüber den der normal konservierten Kerne läßt sich hier schwer etwas bestimmen, da einmal die stark gefärbte Grundsubstanz und dann die Schrumpfung der Kerne hinderlich ist. Der Nucleolus ist in einigen Kernen kleiner als in den konservierten normalen.

Bei Kernen, die ungefähr 24 Stunden in destilliertem Wasser gelegen hatten, waren hinsichtlich der Brownschen Bewegung der Körnchen 3 Arten zu unterscheiden. Solche, in denen die Granula das ursprüngliche leise Schwanken am Ort, wie es die meisten frischen Kerne zeigen, beibehalten hatten. Bei einer 2. Art war die Bewegung bedeutend lebhafter geworden, während bei einer 3. überhaupt keine zu sehen war. Es war demnach in den Kernen der letzteren Art die Grundsubstanz gelatiniert. Alle diese 3 Kerntypen kamen nebeneinander auf demselben Präparat vor.

b) Salzsäure von 38%.

Wenn konzentrierte Salzsäure unter dem Deckglas an die Kerne der Speicheldrüse herantritt, ziehen sich diese plötzlich stark zusammen, um gleich wieder zu quellen. Der Inhalt (Chromatinkörnchen und Nucleolen) verschwindet dabei vollständig. Infolge der Quellung ist nachher die Contur der Kerne stets regelmäßig kreisrund[1]).

[1]) Von Interesse ist vielleicht, daß sich die Sekrettröpfchen der Drüse bei Zusatz von konzentrierter Salzsäure bis auf einige wenige Bläschen lösen.

Beim Konservieren der Präparate, nachdem Salzsäure kurze Zeit (bis zu $^1/_2$ Stunde) eingewirkt hatte, tritt Ausfällung im Kern ein und die Kerne selbst schrumpfen. Die Chromatinkörnchen füllen dann den Kern zahlreicher als im Normalen, auch scheinen Größenunterschiede zwischen ihnen vorzuliegen, und die Nucleolen zeigen verändertes Aussehen. Meist ist nur noch ein Ring mit schwach lichtbrechendem Inhalt zu sehen. Nach Einwirkung von konzentrierter Salzsäure auf den lebenden Kern bis zu 1, 3 Stunden und länger tritt bei der Konservierung stets wieder Ausfällung ein, auch wenn die Salzsäure unter Deckglas kräftig durchgesaugt wurde. Vor den Konservierungen war, wie gleich nach Beginn der Beeinflussung, nichts vom Inhalt zu sehen. Die Chromatinkörnchen sind auch hier zahlreicher geworden, und in der Größe kommen Verschiedenheiten vor. Die Nucleolen treten stark verändert auf; in manchen Kernen ist wieder ein Ring (Schale) mit diffusem oder körneligem Inhalt zu sehen, der in anderen fehlen kann. Die Kerne selbst schrumpfen bei der Konservierung.

Auf gefärbten Schnitten, die von konserviertem Material, das $^1/_2$ Stunde in konzentrierter Salzsäure gelegen hatte, hergestellt worden waren, hatten die Chromogranula in den meisten Kernen die Größe der Chromatinkörnchen des normalen konservierten Kernes und waren auch, soweit sich dies feststellen ließ, der Zahl nach diesen gleich. In solchen Kernen scheint entweder nur Quellung (und Zurückgehen derselben durch die Konservierung) vorzuliegen, oder die gelöste Chromatinsubstanz konnte ihren Ort nicht verlassen (Fig. 7 Taf. XV). In anderen Kernen treten dagegen neben größeren Körnchen, mit dem Aussehen und der Größe von Chromatinkörnchen, noch zahlreiche kleinere auf, die das Innere dieser Kerne dichter erscheinen lassen. Man kann sie entweder als Ausfällungen aus dem Kernsaft ansehen, was sehr wahrscheinlich ist, oder es ist gelöste und durch die Konservierung wieder ausgefällte Chromogranularsubstanz. (Im allgemeinen Teil wird darauf zurückgekommen werden.) In manchen Kernen liegen die Körnchen in einem diffus gefärbten Kernplasma eingebettet, das in anderen fehlt.

Auf Schnitten, deren Material länger als $^1/_2$ Stunde (bis zu 9 Stunden) mit Salzsäure behandelt worden war, sind Größenunterschiede an den Körnchen wahrzunehmen, und die meisten Kerne zeigen dichte gleichmäßige Granulierung. Sehr wahrscheinlich hat also Lösung der Chromatinkörnchen durch die Salzsäure, beginnende Diffusion und Niederschlagung durch die Konservierungsflüssigkeit stattgefunden. In wenigen Kernen war ein Wabenwerk zu sehen, in dessen Wänden die veränderten Chromatinkörnchen eingebettet sind.

Die Nucleolen waren in allen Fällen noch vorhanden, aber stark verändert. Auf Schnitten, deren Material bis zu $^1/_2$ Stunde in konzentrierter Salzsäure gelegen hatte, war in den Kernen, von den Nucleolen, meist nur eine Schale mit wenig gefärbtem Innern zu sehen. (Fig. 8 Taf. XV.) Daneben fast ebenso oft nur noch ein kleiner Rest in Gestalt eines mehr oder weniger großen färbbaren Körnchens. Darum lag ein körnchenfreier Raum, der mitunter schwach aber einheitlich gefärbt, manchmal auch vollkommen ungefärbt sein konnte. In einigen Kernen gingen von diesem Restkorn des Nucleolus Fädchen aus, die den körnchenfreien Raum durchsetzten. Eine Schale war in diesem Falle nicht mehr sichtbar. Auf den Schnitten, deren Material länger als $^1/_2$ Stunde in konzentrierter Salzsäure gelegen hatte, waren die Nucleolen bis auf 1, bisweilen auch 2 Restkörnchen verschwunden, von welchen aus ebenfalls Fädchen den körnchenfreien, meist ungefärbten Raum, wie eben schon geschildert, durchzogen. Bei Behandlung der Kerne mit Salzsäure über 3 Stunden zeigte sich nach der Konservierung starke Schrumpfung. Der Nucleolus ist in einigen bis auf einen ganz geringen Rest gelöst, in anderen scheint er vollständig verschwunden zu sein.

Dazwischenschalten von destilliertem Wasser nach der Beeinflussung mit konzentrierter Salzsäure und vor der Konservierung läßt die Kerne nachher auf den Schnitten etwas weniger geschrumpft erscheinen und das Kerninnere ist weniger dunkel gefärbt. Im übrigen unterscheiden sie sich nicht von den oben beschriebenen Kernen.

c) Ammoniak 5 %.

Bei Zusatz von 5%igem Ammoniak zu den Speicheldrüsenkernen tritt momentane Zusammenziehung und darauf folgend langsame schwache Quellung auf. Die Contur der Kerne war danach sehr wenig lichtbrechend und eben noch sichtbar. Die Chromatinkörnchen verschwinden sofort vollständig für das Auge. Dagegen bleibt von den Nucleolen ein kleiner schwach, zuweilen auch stärker lichtbrechender Rest übrig. Bei 2 Versuchen konnte beobachtet werden, daß sich die vorhandene Vacuole des Nucleolus nach Ammoniakzusatz vergrößerte und die eigentliche Nucleolarsubstanz auf einen schmalen Ring zusammendrängte. In den meisten Fällen hatte der Rest der Nucleolen die Gestalt eines kleinen, unregelmäßigen, geschrumpften Brockens, der in manchen Kernen nach 6 Stunden, in anderen nach 20—24 Stunden noch vorhanden war, während die ringförmigen Reste schon nach 3 Stunden nicht mehr gesehen werden konnten.

Nach 6 Stunden war in manchen Kernen Schrumpfung und feinkörnelige Ausfällung im Innern eingetreten.

Nach 18—24 Stunden fanden sich Kerne von zweierlei Art. Erstens solche mit glatter Oberfläche; meist kleiner als die normalen Kerne. In ihnen war entweder ein Rest des Nucleolus (wie oben beschrieben) oder einige wenige Körnchen, die Brownsche Bewegung zeigten, oder überhaupt kein Inhalt wahrzunehmen. Zweitens Kerne mit geschrumpfter faltiger Oberfläche und feinkörneliger Ausfällung. In den meisten dieser war auch noch ein Rest des Nucleolus vorhanden. An einigen Kernen der ersten Art waren nach 3stündiger Beeinflussung Blasen zu sehen (s. oben S. 295).

Bei der Konservierung der Präparate unter Deckglas, nachdem 5%iger Ammoniak $^1/_2$, 1 und 2 Stunden eingewirkt hatte, trat Ausfällung in den Kernen ein. Die Chromatinkörnchen zeigten keine Änderung, dagegen waren die Nucleolen entweder stark zusammengeschrumpft oder sie bestanden aus einem Brocken, der, wie es bei Salzsäure beschrieben wurde, in einem körnchenfreien Raum lag. Nach 3stündiger Beeinflussung war oft nur noch ein heller Fleck zwischen den Chromogranula zu sehen.

Bei einer Konservierung nach 18—24 Stunden schrumpfen die Kerne stark; die Chromatinkörnchen erscheinen wieder, und sind infolge der Schrumpfung dichter und regelmäßiger gelagert, eine Änderung ist an ihnen nicht wahrzunehmen. Die Nucleolen sind, wie es schon nach 2-stündiger Einwirkung der Fall war, stark verändert und in manchen Kernen nicht mehr festzustellen. In vielen Kernen ist ein wabiger Bau der Grundsubstanz zu erkennen.

In den Kernen der Kontrollschnitte, von Material, das bis zu einer Stunde beeinflußt worden war, ist an den Chromatinkörnchen keine Änderung wahrzunehmen. Dagegen zeigen die Nucleolen bereits verändertes Aussehen. In vielen Fällen bestehen sie aus einer Schale mit einheitlich gefärbtem Innern, das aus äußerst feinem Gerinnsel (Körnchen) besteht, zuweilen ist auch noch ein Restkorn vorhanden, oder der Innenraum ist hell und ohne Inhalt. Sie haben also schon nach $^1/_2$ Stunde begonnen, sich von innen heraus zu lösen. Die Kerne selbst sind geschrumpft und der Kernsaft ist mehr oder weniger mitgefärbt.

In Schnitten, deren Material ebenso behandelt, aber mit 96%igem Alkohol konserviert worden war (das der anderen mit Zenker) zeigten die Kerne etwas anderes Aussehen. Die Chromatinkörnchen liegen, wie auf Fig. 11 Taf. XV zu sehen ist, den Wänden eines Wabenwerks an, das also aus der Grundsubstanz durch die Wirkung des anderen Coagulationsmittels entstanden ist. Die Räume innerhalb der Waben sind in vielen dieser Kerne ohne Inhalt und zeigen auch keine diffus gefärbte Grundmasse. Die Nucleolen unterscheiden sich nicht von denen der oben

beschriebenen Schnitte, sind aber meist, der Waben wegen, nicht mehr festzustellen.

Bei längerer Beeinflussung (bis zu 3 Stunden) muß sich die Kernoberfläche erweicht haben, da die Contur der meisten Kerne unregelmäßig und zerrissen ist. Die Chromatinkörnchen sind noch unverändert vorhanden (sie konnten auch durch starkes Auswaschen in strömender Flüssigkeit, vor dem Konservieren nicht aus dem Kern entfernt werden). Selbst nach einer Beeinflussung der Kerne bis zu 48 Stunden hatten sich keine Körnchen herausgelöst, obgleich die Kernmembran des konservierten Bildes vollständig verschwunden ist und die Kerne, gewiß beim Herandrängen der Konservierungsflüssigkeit, auf einen weiten Raum auseinander gezogen, mitunter auch in zwei und mehr Teile zerflossen sind. In Fig. 12, Taf. XV ist ein derartiger in 2 Teile zerflossener Kern dargestellt (Textfigur 4). Die Körnchen sind noch vorhanden und der Zahl nach anscheinend gleich der in normal konservierten Kernen, der Größe nach wenig kleiner. Darum und dazwischen ist wieder eine einheitlich schwachgefärbte Masse zu sehen, manchmal in Waben angeordnet, die eine zähe Konsistenz gehabt haben muß, da (selbst nach 48 Stunden) keine Mischung mit dem Plasma erfolgt ist.

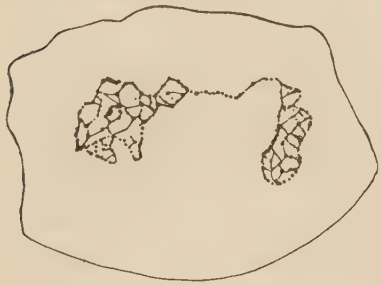


Fig. 4.
Zellumriß und Kern, nach 48 Stunden in NH_3 von 5% konserviert und gefärbt.

Die Nucleolen sind nach 3 Stunden in den meisten Kernen weggelöst und nur der Raum, in dem sie lagen, ist vollständig oder zum Teil abgegrenzt festzustellen. Nach 24- und 48stündiger Beeinflussung ist von den Nucleolen keine Spur mehr vorhanden. Möglich ist, daß die leere Stelle, an der sie gelegen hatten, noch immer als solche erhalten ist, was aber jetzt der Waben wegen nicht festgestellt werden kann.

d) Natriumcarbonat 10%.

Wenn 10%ige Sodalösung an die Kerne herantritt, schrumpfen sie momentan, um sofort wieder stark zu quellen. Die Contur der Kerne ist nach der Quellung eben noch sichtbar; bei Zusatz von destilliertem Wasser tritt sie wieder deutlicher hervor. Bei zwei Kernen, deren Durchmesser 16 und 17 μ waren, vergrößerte sich der des ersten durch die Quellung um ungefähr 24 μ, der des zweiten um 20 μ. Die Chromatinkörnchen verschwinden sofort nach Zusatz vollständig. Nach 6 Stunden

traten in wenigen Fällen wieder ein paar kleine schwach lichtbrechende Granula auf, die sich in Brownscher Bewegung befanden. Ebenso wie die Körnchen verschwinden auch die Nucleolen sofort vollkommen, in den Kernen ist dann kein Inhalt mehr wahrzunehmen. Nach 24stündiger Beeinflussung der Kerne war in manchen ein schwach lichtbrechendes Wabenwerk sichtbar geworden, dessen Wänden Körnchen anhingen, während die Zwischenräume körnchenfrei waren.

Beim Konservieren der $^1/_2$, 1, 3 und 6 Stunden beeinflußten Präparate, unter Deckglas, trat starke Schrumpfung der Kerne ein und in allen Fällen erschien ein deutliches Wabenwerk. Die Chromatinkörnchen lagen den Wabenwänden an und zeigten nach Beeinflussung bis zu 3 Stunden keine Änderung. Nach 6stündiger Behandlung waren sie teilweise kleiner als im normalen Kern. Von den Nucleolen wurden anfangs Reste ausgefällt, bei der Konservierung nach 6 Stunden konnten solche nicht mehr mit Sicherheit festgestellt werden. Die meisten Kerne zeigten nach 6 Stunden zerflossenes Aussehen, die Kernmembran mußte demnach weggelöst sein. Bei einer Konservierung nach 24stündiger Beeinflussung traten dieselben Bilder wie nach 6 Stunden auf.

In Schnittpräparaten von Drüsenstückchen, die mit Natriumcarbonat behandelt worden waren, fanden sich schon nach $^1/_2$ Stunde Kerne, die aus größeren und kleineren »Waben« bestanden. Die Wabenwände werden aus Fädchen gebildet, an denen vereinzelte kleine veränderte Chromatinkörnchen sitzen. Die Kerne im Innern der Schnitte sind stark geschrumpft, während die am Rande liegenden große Waben aufweisen, keine Membran mehr besitzen und meist stark auseinander gezogen sind. Die Nucleolen sind in den Kernen der ersten Art (im Innern der Schnitte) oft noch zu sehen und bestehen aus einer Schale mit geringem Rest darin. In den Kernen am Rande sind sie wohl ebenso noch vorhanden, aber von den Waben nicht mehr zu unterscheiden. Im Inneren der Waben ist eine diffuse schwach gefärbte homogene Masse sichtbar.

Ganz ähnliche Verhältnisse zeigen die Kerne der bis zu einer Stunde behandelten Schnitte. Fig. 13 Taf. XV zeigt einen derartigen Kern. Neben zahlreichen größeren und kleineren Waben sind in den Wabenwänden veränderte kleinere Chromatinkörnchen sichtbar. Reste des Nucleolus lassen sich nicht mehr feststellen. Das Wabeninnere ist von einer homogenen schwach gefärbten Masse erfüllt.

Nach 3 Stunden sind die Kerne der Schnitte weit auseinander gezogen mit großen, manchmal sehr großen Waben im Innern. Einige Körnchen sind noch vorhanden, die aber viel kleiner erscheinen als die Chromatinkörnchen des normalen Kernes. Vom Nucleolus ist nichts mehr zu finden

aus dem oben angegebenen Grunde. Die Kernmembran ist gelöst, aber der Kern zeigt immer noch einen deutlichen Zusammenhang.

Bei dem bis zu 24 und 48 Stunden im Tubus behandelten Material sind die Kernbilder nur insofern von den eben geschilderten verschieden, als sie zum Teil nicht mehr so stark auseinandergezogen sind und keine so großen Waben aufweisen. Einige kleine Körnchen sind noch vorhanden, und innerhalb der Waben ist eine diffuse Masse sichtbar. Das Vorhandensein der Nucleolen kann nicht mehr festgestellt werden, doch hat es den Anschein, als ob hier und da noch eine Schale vorkäme.

e) Kochsalzlösung 10%.

Bei Behandlung der Speicheldrüsenkerne mit 10%iger Kochsalzlösung verändern sich sowohl die Körnchen als auch die Nucleolen. Im Augenblick des Eindringens der Lösung wird auch hier die Oberfläche der Kerne etwas runzelig, glättet sich aber sofort wieder. Eine Quellung der Kerne tritt offenbar kaum oder gar nicht ein, jedenfalls war eine solche nicht meßbar. Während ein Teil der Chromatinkörnchen quillt und verschwindet, sind einige wenige nach Stunden noch deutlich sichtbar. In den meisten Kernen sind nach der Beeinflussung Bildungen zu sehen, die das Aussehen von Falten haben. Die Nucleolen waren in einigen Kernen ganz verschwunden, in anderen dagegen noch ziemlich deutlich wahrzunehmen, doch war ihr Aussehen von dem der Nucleolen des lebenden normalen Kernes verschieden. Bisweilen war er größer, demnach zum Teil oder ganz gequollen, oder es war noch ein kleiner wohl unquellbarer Rest vorhanden, um den nichts zu sehen war.

Beim Konservieren der Kerne, nachdem Kochsalzlösung über $^1/_2$ Stunde und länger eingewirkt hatte, trat im Vergleich zu den normal konservierten Kernen beträchtliche Schrumpfung auf (Textfig. 5). Die Chromatinkörnchen erschienen wieder, infolge der starken Schrumpfung der Kerne dicht nebeneinander liegend und anscheinend ebenfalls geschrumpft. Der Nucleolus war, wie schon vor der Ausfällung zu sehen war, stark verändert. In den meisten Fällen trat nur noch ein schwachlichtbrechender kleiner Brocken auf, ähnlich wie bei den mit konzentrierter Salzsäure und Natriumcarbonat behandelten Kernen. In Fig. 8 a Taf. XV ist ein Kern nach 24stündiger Behandlung mit Kochsalzlösung dargestellt. Es sind noch Körnchen und kleine Schollen und außerdem ein Rest des Nucleolus sichtbar. Fig. 8 b zeigt denselben Kern nach Konservierung mit 3%iger

Fig. 5.
Speicheldrüsenkern, a nach 24 St. in NaCl von 10%, b derselbe konserviert in Essigsäure bei gleicher Vergrößerung.

Essigsäure. (Der veränderte Nucleolus liegt hier nicht in der Zeichenebene.) Bei Konservierung der lebenden normalen Kerne mit 3%iger Essigsäure tritt kaum Schrumpfung auf. Die Chromatinkörnchen erscheinen hierbei nach der Konservierung rinnselig mit starkem Glanz, während die Lichtbrechung des Nucleolus schwächer wird, da er etwas quillt.

Auf den Kontrollschnitten sind nach einer Beeinflussung mit Kochsalzlösung bis zu 3 Stunden die Kernbilder nicht sehr von den eben beschriebenen verschieden. Die große Mehrzahl der Kerne ist stark geschrumpft, um so mehr, je länger sie in der Kochsalzlösung gelegen hatten. Doch sind auch einige Kerne vorhanden, die selbst nach langer Beeinflussung nur wenig Schrumpfung zeigen. In starkgeschrumpften Kernen ist das Innere meist auf einen Klumpen zusammengedrängt, um den ein körnchenfreier ungefärbter Raum liegt, der nach außen hin von einer Membran begrenzt ist. In weniger geschrumpften Kernen sind deutlich Chromatinkörnchen zu sehen, die in einer schwachgefärbten Grundsubstanz eingebettet liegen. An ihnen ist keine Änderung wahrzunehmen. Die Nucleolen dagegen sind stark angegriffen und erscheinen, wie oben schon erwähnt, als unregelmäßige kleine Brocken, die sich nur schwach färben und in einem ungefärbten Raume liegen. Den Raum durchkreuzen zuweilen feine Fädchen vom Nucleolus ausgehend oder es liegt neben dem Nucleolus ein feiner rinnseliger, schwach gefärbter eben noch sichtbarer Niederschlag. In Fig. 9 Taf. XV ist ein derartiger Kern eines Drüsenstückchens dargestellt, das 3 Stunden mit Kochsalzlösung beeinflußt worden war. Der Nucleolus, ein schwach gefärbter Brocken, liegt in einem hellen ungefärbten Raume, der von einigen Fädchen durchsetzt wird. Die Grundsubstanz ist stark gefärbt und in Alveolen oder Waben angeordnet, die bedeutende Größe annehmen können, wie rechts unten zu sehen ist.

Bei Kernen, die bis zu 24 Stunden und länger mit 10%iger Kochsalzlösung behandelt und dann konserviert worden waren, sind in manchen die Verhältnisse den eben beschriebenen ähnlich. In den meisten anderen dagegen sieht man zahlreiche kleinere Waben den Kern regelmäßig erfüllen. Die Chromatinkörnchen sind kleiner als die des normal konservierten Kernes und liegen in den Wabenwänden, von denen sie häufig kaum zu unterscheiden sind. (Im allgemeinen Teil wird auf die Erscheinung der Wabenentstehung näher eingegangen werden.) Der Nucleolus besteht in diesen Kernen, sofern er, der Waben wegen, noch festzustellen ist, aus einem kleinen Brocken, wie er oben schon beschrieben wurde, oder man sieht nur einen begrenzten Raum, in dem meistens etwas feines Gerinnsel liegt.

Zum Schluß seien hier noch einige Beobachtungen über die Brownsche Bewegung der Körnchen nach Elektrolytzusatz angeführt. Anscheinend im Gegensatz zu älteren Angaben für anorganische Dispersionen, daß kleine Mengen von Elektrolyten die Brownsche Bewegung stark reduzieren oder gar aufheben, wurde hier, bei Versuchen mit 1,5%iger Kochsalzlösung, eine Beschleunigung der Bewegung gefunden. In den meisten Kernen, die längere Zeit (12—24 Stunden) mit 1,5%iger Kochsalzlösung behandelt worden waren (die Präparate wurden bald nach Zusatz umrandet), war die ursprüngliche schwache Bewegung der Chromatinkörnchen viel lebhafter geworden. Neben dem Schwanken am Ort zeigten manche gleichzeitig noch fortschreitende Bewegung. Das erstere war zuweilen so kräftig geworden, daß sich Körnchen, die an Fädchen anhingen, noch bewegten, und dadurch die Fädchen in Schwingung versetzten. So schwankten z. B. in dem Kerne der Fig. 10 Taf. XV die 3 perlschnurartigen vom Nucleolus zur Membran verlaufenden Körnchenreihen gleichmäßig hin und her und durch diese Schwingungen wurde auch der Nucleolus in Bewegung gesetzt.

Neuerdings ist zwar auch von Lecoq, bei einer kolloiden Lösung von metallischem Arsen, eine deutliche Zunahme der Eigenbewegung nach Zusatz von Elektrolyten gefunden worden. In unserem Fall aber wird die Wirkung wohl indirekt nur durch Änderung der Viscosität in der kolloiden Grundsubstanz zustande kommen.

B. Corethralarve.

1) Untersuchung der lebenden und konservierten Kerne der Malpighischen Gefäße.

Wenn wir die Kerne der Malpighischen Gefäße im lebenden Tiere untersuchen, was der Dicke der Larven wegen nur mit schwächerer Vergrößerung möglich ist, so sehen wir sie als ovale oder runde Bläschen, mit einem, zuweilen auch mehreren stärker lichtbrechenden, regelmäßig und unregelmäßig gestalteten größeren Körperchen im Innern. Bei günstiger Lage der Kerne und bei besonders hochgradiger Durchsichtigkeit der Körperwand ist neben diesen Körperchen auch noch anderer geformter Inhalt sicher wahrzunehmen. Untersucht man die Gefäße außerhalb des Körpers, in Blutflüssigkeit oder Ringerschem Gemisch, so findet man bei Anwendung starker Vergrößerungen in den Kernen neben den eben erwähnten größeren Körperchen eine Anzahl kleinere, die eine gewisse Anordnung erkennen lassen, welche sich als eine Zusammenlagerung zu einer Schleife herausstellt. Dieselbe Lagerung der kleinen Körperchen tritt uns auch in den Speicheldrüsenkernen entgegen, die etwas größer

und besser durch die Körperwand hindurch sichtbar sind als die Kerne der Malpighischen Gefäße. Wir haben es mit einem Kernfaden zu tun, der unter günstigen Bedingungen schon im lebenden Tiere gesehen werden kann, nicht allzuschwer in den Kernen der Speicheldrüse, schwerer in denjenigen der Malpighischen Gefäße.

Sehen wir nun die Bilder der konservierten und gefärbten Kerne an (Fig. 14—18 Taf. XV, Textfig. 6) — jeder einzelne stammt aus einem anderen Gefäße —, so tritt uns auch hier deutlich ein Kernfaden entgegen, der, wie bei Chironomus, zweierlei jeweilen alternierend stehende Abschnitte erkennen läßt. Davon nehmen die einen chromatische, die anderen »achromatische« Färbung an. Bei Färbung mit Safranin und Häm. Del. wurde der Nucleolus rot, die chromatischen Teile der Schleife blau und alles Übrige schwach rötlichblau. Die im Leben schon mit schwacher Vergrößerung deutlich sichtbaren größeren Brocken erweisen sich beim Vergleich als die Nucleolen. In den gezeichneten Kernen ist immer nur einer vorhanden, der durch die Konservierungsflüssigkeit etwas geschrumpft ist. Das verschiedene Aussehen der einzelnen Schleifen, besonders in den Kernen der Fig. 16 u. 17 Taf. XV ist, da beide Kerne mit Zenker konserviert, aber wie erwähnt, nicht aus demselben Gefäß stammen, offenbar auf eine wechselnde Beschaffenheit des lebenden Kernfadens je nach dem physiologischen Zustand zurückzuführen.

Fig. 6.
Kern aus dem Malpighischen Gefäß der Corethralarve, konserviert und gefärbt.

2) Lösungsversuche[1]).

In destilliertem Wasser quellen die Kerne und der Inhalt verschwindet fast oder ganz für das Auge. Es quillt also auch der Kernfaden und die Nucleolen. Bei der Konservierung nach kürzerer Beeinflussung tritt feinkörnelige Ausfällung ein, mit größeren Körnern dazwischen, und der Nucleolus erscheint kleiner wieder, wobei es unentscheidbar ist ob dies die Folge von Schrumpfung oder Substanzverlust. Die Körner färben sich mit Kernfarbstoffen chromatisch.

[1]) Die Beeinflussung dieser Kerne mit den verschiedenen Reagentien vollständig, wie bei den übrigen Kernen durchzuführen, war mir wegen Zeitmangel nicht mehr möglich. Es wurden nur einige wenige Versuche mit destilliertem Wasser, konz. Salzsäure, 10%iger Kochsalzlösung und 3%iger Essigsäure angestellt.

Bei den Versuchen mit 10%iger Kochsalzlösung quillt der Nucleolus und der Kernfaden, doch bleiben noch Körner sichtbar, und in manchen Kernen sind Faltungen oder Wände eines Wabenwerkes zu sehen. Konservierung bewirkt hier ziemlich starke Schrumpfung der Kerne, ähnlich wie sie in den NaCl-Versuchen bei *Limnaea* nach Zusatz von 3%iger Essigsäure eingetreten war. Im Kerninnern tritt auch hier feinkörnelige Ausfällung ein mit größeren Körnern dazwischen, wie es die Fig. 19 u. 20 Taf. XV zeigen. Der Nucleolus des Kernes der Fig. 19 Taf. XV ist geschrumpft, sonst aber nicht verändert. Fig. 20 Taf. XV zeigt eine starke Schrumpfung der Oberflächenschicht des Kernes und im Innern strangartige Gebilde, die entweder Verdichtungen in der Grundsubstanz, oder, was hier wahrscheinlicher ist, Reste des Kernfadens sein können.

Nach Zusatz von konzentrierter Salzsäure treten die Kerne der Gefäße deutlicher hervor. Ihr Inhalt quillt darauf und verschwindet allmählich vollständig. Dabei quillt auch der ganze Kern etwas, schrumpft aber bald nach dem Verschwinden des Inhaltes wieder. Beim Konservieren der bis zu $^1/_2$ Stunde beeinflußten Kerne tritt ein feinkörneliger Niederschlag mit größeren chromatisch färbbaren Körnchen dazwischen auf und in einigen Kernen ein Rest des Nucleolus, der in anderen verschwunden war (Fig. 21 Taf. XV). Nach $^1/_4$- bis $^1/_2$stündiger Beeinflussung der Kerne mit Salzsäure erfolgte meist ein Heraustreten des ganzen Gefäßinhaltes mit den Zellen und Kernen in den Darm, was ein weiteres Beobachten der Kerne zwecklos machte.

3%ige Essigsäure läßt die Kerne der Malpighischen Gefäße quellen und ebenso die Nucleolen, während der im Normalen schwach sichtbare Kernfaden rinnselig und stark lichtbrechend wird. Eine weitere Veränderung tritt nicht ein.

C. Triton- (Tr. vulgaris) und Salamanderlarve (S. maculosa).

1) Untersuchung der lebenden und konservierten Epithelkerne der Schwanzflosse und Kiemen.

Wie bekannt, hat sich schon Flemming in den siebziger Jahren eingehend mit dem Studium der Epithelkerne sowohl der Salamanderlarven als auch der von erwachsenen Tieren beschäftigt. Er entwirft von diesen Kernen auf Grund kritischer Vergleiche zwischen Lebendbeobachtungen und mit Alkohol, Essig-, Pikrin-, Chrom- und Osmiumsäure konservierter und mit Carmin, Safranin, Haematoxylin u. a. gefärbter Kerne kurz folgendes Bild: die Kernoberfläche ist vielfach eingebuchtet und faltig, bei manchen verlaufen die Buchten bis tief in die Kernmitte. Erst beim Absterben nehmen die Kerne mehr gleichmäßig runde Formen an, und

ebenso wirken auf sie die meisten Reagentien, vor allem hat Osmiumsäure das Bestreben, die Oberfläche abzurunden. Im Innern günstig gelegener Epithelkerne sind im Leben in einer homogen aussehenden blassen Masse Teile eines Netzwerkes mit Verdickungen, die er Netzknoten nennt, und in diesen hier und da abgegrenzte Nucleolen deutlich sichtbar. Die Netzknoten erklärt er auf Grund seiner konservierten und gefärbten Präparate für Teile der chromatischen Substanz der Kerne, die, in Form eines Gerüstwerks angeordnet, von ihm bis in feinste Ausläufer verfolgt werden konnte; die in seinen Bildern außerdem dargestellten chromatischen Punkte hält er für optische Querschnitte des Kerngerüstes.

Erst in neuerer Zeit wurde diese Darstellung Flemmings und damit im Grunde seine Anschauung über den Zellkern von einigen Autoren angegriffen. Besonders ist hier, wie oben schon erwähnt, Tellyesnicky zu nennen, der die Flemmingschen Bilder von konservierten und gefärbten Kernen auf die Wirkung der angewandten Konservierungsflüssigkeiten zurückführt, und den wirklich lebenden Kern, abgesehen von einigen freien Körnern, für homogen erklärt.

Sehen wir uns nun zuerst die Schwanzflosse der lebenden Tritonlarve auf die im methodischen Teile näher beschriebene Art und Weise an, so finden wir nur sehr wenig Epithelkerne, die deutlich genug sichtbar sind, um ein genaues Studium zuzulassen. Der Hauptgrund dafür ist einmal in ihrer geringen Lichtbrechungsdifferenz von der Umgebung zu suchen — viele treten überhaupt erst beim Absterben der Zellen hervor; und dann stören vielfach die Pigmentzellen. Was an den Kernen, die sofort deutlich sichtbar sind, am ersten auffällt, ist ihre gefaltete und eingebuchtete Oberfläche, wie dies auch Flemming beschrieben hat. Neben stumpfwinkligen Einbuchtungen (Fig. 22b u. 22d Taf. XV) finden sich tiefe Furchen, die über den ganzen Kern hinziehen. Derartige Furchen sind in den Fig. 22 a u. 22 c an zwei Kernen der Schwanzflosse (ganz und zum Teil von der Seite) und in Fig. 22 e an einem Kern der Kieme (von oben gesehen) zu beobachten. Diese Oberflächengestaltungen sind auch schon mit schwächerer Vergrößerung wahrzunehmen. Mit denselben Linsen sieht man im Innern der Kerne stets einige mehr oder weniger unregelmäßig gestaltete, größere und kleinere Brocken, die Netzknoten Flemmings. Mit der Immersion finden sich im lebenden Kern zwischen manchen der letzteren feine schwach lichtbrechende Verbindungen (Fig. 22 a u. 22 d), es wären dies nach Flemming die stärkeren Teile eines Kernnetzes. Auch einige von Flemming für optische Durchschnitte des Kerngerüstes erklärte Gebilde treten deutlich hervor; befinden sich aber in schwacher Brownscher Bewegung. Dies dürfte zu

ihrer Charakterisierung als freie Körner schon genügen, obwohl im lebenden Kern die feinen Teile eines Gerüstwerkes wegen ihrer geringen »Lichtbrechungsdifferenz« nicht gesehen werden können und demnach aus den Lebenduntersuchungen allein deren Nichtexistenz nicht bewiesen werden kann. In manchen Kernen sind im Leben auch die Nucleolen, relativ kleine, mehr oder weniger runde Gebilde sichtbar. Häufig liegen sie in den Netzknoten, rings von ihrer Substanz umgeben und schwächer lichtbrechend als diese (Fig. 22 e). Beim Absterben der Kerne werden sie in fast allen deutlich und sind dann vielfach stark vacuolisiert.

Dieselben Verhältnisse, wie sie soeben von den lebenden Epithelkernen der Schwanzflosse beschrieben wurden, finden sich auch in denen der Kiemenblättchen, wie aus den Fig. 22 c u. 22 f hervorgeht.

In manchen Epithelkernen der Schwanzflosse des durchaus intakten Tieres fand sich nun außer den eben geschilderten Strukturteilen noch eine feine regelmäßige Körnelung, wie dies die Fig. 22 a, b u. d zeigen. In Fig. 22 b u. d sind ungefähr die Mittelebenen der Kerne dargestellt, während in Fig. 22 a auch die darüber und darunter liegenden Ebenen in die Zeichnung eingetragen wurden. Diese kleinen Körnchen befinden sich im Leben in Brownscher Bewegung, einem leisen Zittern und Schwanken am Ort. Nicht in allen Epithelkernen der Schwanzflosse waren sie sichtbar (Textfig. 7 b u. c); in den Kernen der Kiemen habe ich sie nicht finden können, eine Differenz, die sich aus den konservierten Bildern erklärt (s. u. Fig. 23 f und 23 g), vielleicht aber doch auch damit zusammenhängt, daß die Kiemenblättchen zur Untersuchung abgeschnitten werden mußten.

Fig. 7.
Epidermkerne von Triton, a vom Schwanz, b und c von der Kieme. Lebend, Mittelebene gezeichnet.

Halten wir nun diesen Kernbildern die nach verschieden konservierten und gefärbten Präparaten hergestellten Bilder, wie sie in den Fig. 23 a—g Taf. XV dargestellt sind, gegenüber, so finden wir im großen und ganzen ziemlich Übereinstimmung. Die Kernoberfläche ist unregelmäßig, doch nicht bei allen ganz so stark gebuchtet und gefaltet wie im Leben, es zeigt sich also hier, wie auch Flemming schon angegeben hat, die Tendenz der Konservierungsflüssigkeiten, die Kerne abzurunden. Im Innern finden wir die wenigen Körner (daß es tatsächlich solche sind, läßt sich an Totalpräparaten durch die Mikrometerschraube feststellen) und unregelmäßig

gestaltete mehr oder weniger große Brocken (Netzknoten) wieder, die zum Teil miteinander in Verbindung stehen. An einigen der Brocken fällt es auf, daß sie aus zwei färberisch verschiedenen Substanzen bestehen, einer weniger chromatischen, in den Figuren heller dargestellten, und einer stärker chromatischen, dunkler gezeichneten, die in ihrer Färbung mit der der Körner übereinstimmt. Es tritt dies besonders deutlich in den Fig. 23 c, d u. f Taf. XV zutage, und es handelt sich nicht etwa um optische Durchschnitte senkrecht zur Bildebene verlaufender Fäden, vielmehr sind es auch hier Körner, die in den Netzknoten eingebettet liegen, wie ebenfalls an Totalpräparaten durch die Mikrometerschraube festzustellen ist. In den Kernen der Fig. 23a, b, c und f sind die Nucleolen, kleine schwach gefärbte runde Gebilde zu sehen; in Fig. 23a ist einer der beiden rings von chromatischer Substanz umgeben. Die Netzknoten, Nucleolen und Körner liegen in allen konservierten Kernen in einer regelmäßigen Körnelung eingebettet, die aber in den einen feiner, in anderen gröber beschaffen ist. (Fig. 23a—g.) Feiner sind die Körnchen in allen Epithelkernen der Kiemen, wie aus den Fig. 23f und g (Textfigur 8b) hervorgeht, womit wohl ihre Unsichtbarkeit im Leben zusammenhängt. Diese Körnchen färben sich mit den üblichen Kernfarbstoffen nicht, und sind auch hinsichtlich der Größenstufe identisch mit den in konservierten Kernen als achromatisch beschriebenen cyanophilen Körnern Altmanns bzw. den Oxychromiolen Heidenhains. Diese Oxychromiolen sind also vital präformiert, wie oben gezeigt wurde, was bisher ganz unbekannt war.

Fig. 8.
Epidermiskerne von Triton, kons.
a von der Schwanzflosse, b von der Kieme.

Noch nicht näher eingegangen wurde bis jetzt auf den in der Fig. 23h dargestellten Epithelkern, da er ein von den übrigen Kernbildern vollkommen abweichendes Aussehen zeigt. Die Figur ist von einem, mit vom Rathschen Gemisch konservierten Präparat der Schwanzflosse. Während in allen übrigen mit Zenker oder Flemming konservierten Kernen (Fig. 23 a—g) von dem Flemmingschen Kernnetz (s. seine Fig. 29a und 81 in »Zellsubstanz, Kern und Zellteilung«) durchaus nichts zu sehen ist, tritt uns hier ein deutliches Gerüstwerk entgegen, mit drei großen ebenfalls aus zwei färberisch verschiedenen Substanzen bestehenden Netzknoten. Während also von den benutzten 5 Konser-

vierungsflüssigkeiten (Zenk., Herrmannsche, Carnoysche Flüssigkeit, Flemmingsches und vom Rathsches Gemisch), 4 im großen und ganzen ähnliches zeigen (obgleich nicht alle Chromsäure enthalten, s. Flemming 10), weicht einer in den gelieferten Bildern erheblich ab. Man kann daraus wohl schließen, daß das Strukturbild durch diese eine Konservierungsflüssigkeit (in der gewählten Anwendungsart) besonders stark geändert wurde, und daß die Kerne der anderen Figuren den wirklichen Kernverhältnissen näher kommen.

Bei den Untersuchungen am lebenden Tier wurde, wie dies schon im methodischen Teile erwähnt ist, besonderer Wert darauf gelegt, daß der Blutumlauf in den Gefäßen nicht stockte oder aufhörte. Es ist dies notwendig, da sich bei einer Unterbrechung des Blutumlaufes, z. B. durch leichten Druck auf das Deckglas, sehr bald beträchtliche Umänderungen in den Kernen vollziehen. Zunächst treten alle Kerne an der beteffenden Stelle deutlich und scharf hervor, und im Innern erscheinen fast augenblicklich größere und kleinere Klumpen oder Brocken, die in der Lichtbrechung von den Netzknoten nicht zu unterscheiden sind. Häufig treten auch zu Beginn dieser Erscheinungen Bilder auf, wie eins in der Fig. 24a Taf. XV dargestellt ist. Infolge der Schnelligkeit des Entstehens der Brocken war es nicht möglich festzustellen, was aus den Netzknoten, Körnern, Nucleolen und Oxychromiolen wurde. Wahrscheinlich werden die ersteren von der neuauftretenden Substanz umlagert, da die Oberfläche fast aller Klumpen ziemlich abgerundet ist, und eine so momentane Lösung der Netzknoten, Nucleolen und Körner nicht gut angenommen werden kann. In Kernen mit vorher deutlich sichtbaren Oxychromiolen waren diese nach dem Auftreten der Brocken verschwunden. Die Fig. 24 b—d zeigen noch andere durch Blutstillstand hervorgerufene Kernbilder. Die feinen Körnchen der Fig. 24a—d befanden sich in lebhafter Brownscher Bewegung. Trotzdem bei einem Versuche das Blut nach kurzer Unterbrechung wieder lebhaft floß, behielten die Kerne während der folgenden 5 Minuten, in denen sie noch beobachtet werden konnten, ihr verändertes Aussehen bei. Das Tier mußte dann zur Erholung in frisches Wasser gebracht werden. Nach 15—20 Minuten wurden die betreffende Stelle wieder angesehen, doch war wegen der Schwierigkeit, dieselben Kerne wiederzufinden, nicht zu entscheiden, ob diese normal geworden waren.

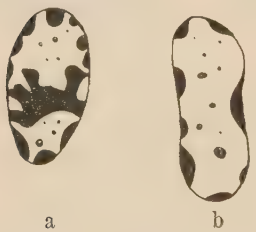


Fig. 9.

Epidermiskerne von Triton mit pseudochromatischen Bildungen, a späteres, b früheres Stadium.

Es konnte nur festgestellt werden, daß die Kerne an der Stelle noch sehr deutlich sichtbar waren. Dieselben und ähnliche Bilder traten auch in den Kernen der abgeschnittenen Schwanzflosse und der Kiemen auf, nachdem ungefähr eine halbe Stunde seit dem Abtrennen vom Körper verflossen war; ein Druck war dabei vermieden worden.

Ganz ähnliche Erscheinungen hat auch Flemming bei seinen Untersuchungen der Kerne des Bindegewebes der Salamanderlarve und in den Kernen der Salamanderblase gefunden und als Absterbeerscheinungen beschrieben.

Versuche von Albrecht, bei denen »Kernchromatin« während der Entstehung von Myelinfiguren im Plasma verschwand, legten den Gedanken nahe, hier vielleicht eine Vorbereitung zur Myelinbildung gefunden zu haben. Doch traten bei langer Beobachtung keine Myelinfiguren im Plasma auf; auch lösten sich die Brocken selbst in Äther nicht.

2) Lösungsversuche.

a) Wirkungen des destillierten Wassers.

Bei Zusatz von destilliertem Wasser zu den unter dem Deckglas befindlichen Schwanz- und Kiemenstückchen der Larven, treten die im Normalen schwer sichtbaren Epithelkerne deutlicher hervor und quellen allmählich ganz beträchtlich, was mit der Zeit noch zunehmen kann. Die Netzknoten und Chromatinkörner bleiben einige Minuten unverändert sichtbar, quellen dann ebenfalls und verschwinden langsam, doch sind in manchen Kernen nachher noch wenige (2—6, zuweilen mehr) stark lichtbrechende Körnchen vorhanden (s. Fig. 25a Taf. XV), die bei mehreren Versuchen nach 24 Stunden noch zu sehen waren.

Die Nucleolen sind lange Zeit nach Wasserzutritt noch zu beobachten und verhalten sich in den einzelnen Kernen verschieden. In einigen werden sie kaum oder garnicht verändert, selbst nach 24 Stunden zeigen sie kein anderes Aussehen, in anderen dagegen wurden sie mehr oder weniger stark angegriffen. Ihre Substanz war gequollen und nach längerer Beeinflussung mit destilliertem Wasser zum Teil in Lösung übergegangen, wie sich später bei Konservierung zeigte.

In Kernen, in welchen im Leben deutlich »Oxychromiolen« gesehen werden konnten, verschwanden diese nach Wasserzusatz nicht, selbst nach 16 Stunden waren sie noch vorhanden. In direkt daneben liegenden Kernen, die im normalen lebenden Zustand keine Oxychromiolen zeigten, war bald alles, bis auf die oben beschriebenen wenigen Körnchen und Nucleolenreste unsichtbar.

Im Normalen sichtbare Verbindungen zwischen Netzknoten waren bald nach Zusatz von destilliertem Wasser verschwunden.

Die Grundsubstanz wird durch Aufnahme von Wasser flüssiger. Es zeigte sich dies daran, daß in freiliegenden Zellen, die durch die Wimperbewegung der Kiemen in Rotation versetzt wurden, die Nucleolenreste und einige Körnchen, die nach Wasserbehandlung meist noch sichtbar sind, im Kerninnern frei umherschwammen.

Bei Konservierung der mit destilliertem Wasser behandelten Epithelkerne unter Deckglas tritt in allen Kernen eine gleichmäßige körnelige Ausfällung ein, und die Quellung geht zurück. In den Kernen mit Oxychromiolen ist die Körnelung nach der Konservierung zahlreicher und dichter. In der Größe der ausgefällten Körnchen sind Unterschiede festzustellen. Erfolgt die Konservierung nach $^1/_2$—1stündiger Beeinflussung, so erscheinen außerdem, wie in Fig. 26 b Taf. XV dargestellt ist, noch Reste von den Netzknoten, neben chromatischen Körnern und Nucleolen (oder Resten von solchen). In manchen Kernen traten auch wieder Verbindungen zwischen einzelnen Netzknoten auf. Bei der Konservierung nach 1stündiger Behandlung war in den meisten Kernen von den Verbindungen nichts mehr zu sehen und die Netzknoten bis auf geringe Reste, oder, in manchen Kernen, ganz verschwunden. Neben einem feinkörneligen Niederschlag kamen noch Nucleolenreste und größere Körner vor. Ebensolche Bilder traten auch bei späteren Konservierungen auf.

Auf den Kontrollschnitten, die von Kiemen- und Schwanzstückchen hergestellt wurden, die nach Behandlung mit destilliertem Wasser in Abständen von $^1/_2$, 1, 3 und 24 Stunden konserviert worden waren, zeigen die Epithelkerne dieselben Verhältnisse, wie sie eben beschrieben wurden. Die Kerne sind meist durch die Konservierung geschrumpft, nach 24stündiger Beeinflussung oft ziemlich erheblich. Im Innern tritt ebenfalls bei allen ein Niederschlag aus Körnchen auf, zwischen denen Größenunterschiede bestehen. Die Netzknoten haben nach längerer Behandlung mit Wasser an Größe stark abgenommen, doch sind in manchen Kernen nach 24stündiger Beeinflussung noch Teile von ihnen sichtbar. Die Nucleolen erscheinen weniger stark angegriffen, dagegen ist von Gerüstbalken oder -fäden nichts mehr wahrzunehmen. Fig. 26 stellt einen nach 24stündiger Beeinflussung mit Wasser konservierten und gefärbten Kern dar. Eine scharfe Abgrenzung (Membran) ist noch vorhanden. Die Chromatinkörnchen, die zum Teil etwas kleiner erscheinen als im normal konservierten Kern, liegen zwischen einer feinkörneligen achromatischen Grundmasse verstreut. Die Netzknoten und Verbindungen sind hier verschwunden, und von den Nucleolen finden sich nur noch helle, substanzleere Räume, um die keine Schale zu sehen ist.

b) Salzsäure 38%.

Bei Zusatz von konzentrierter Salzsäure zu den unter Deckglas in Ringerschem Gemisch liegenden Epithelkernen der Schwanzflosse werden diese ebenfalls momentan schärfer und deutlicher, um kurz darauf stark allseitig zu schrumpfen (Fig. 27 b Taf. XV). Die Schrumpfung geht allmählich etwas zurück, was darin zum Ausdruck kommt, daß sich die faltige und eckige Oberfläche der geschrumpften Kerne zum größten Teile wieder abrundet. Bei *Salamandra* folgt auf eine momentane Schrumpfung der Kerne nach Säurezusatz ziemlich starke Quellung. Hinsichtlich der darauf oder gleichzeitig erfolgenden Änderungen im Kerninnern lassen sich verschiedene Arten von Kernen unterscheiden. Einmal solche, in denen nach ungefähr 15 Minuten von dem ganzen Inhalte nichts mehr wahrzunehmen ist (Fig. 27 c). Daneben fanden sich Kerne, in welchen Reste der Nucleolen und wenige kleine Körner (wieder in einer Anzahl von 2 bis zu 6 Stück) in Brownscher Bewegung sichtbar waren, oder die Körner waren allein vorhanden. Die Nucleolenreste konnten in verschiedenen Kernen noch nach 3stündiger Einwirkung von Salzsäure gesehen werden, während die Körner bis zu 1 Stunde festgestellt wurden. Die Oxychromiolen verschwanden in Kernen, in denen sie im Leben beobachtet werden konnten, nach Zusatz von Salzsäure erst einige Minuten später als die Netzknoten (Fig. 27b). Bei einer länger als 1stündigen Beeinflussung schrumpfen die Kerne immer mehr zusammen und ihre Kontur wird häufig faltig. Fig. 28b Taf. XV zeigt die Veränderung eines Epithelkernes der Kieme nach Zusatz der Säure und seine Schrumpfung nach 4stündiger Beeinflussung (Fig. 28 c).

Eine Schrumpfung tritt gleichfalls auf, wenn nach längerer Beeinflussung destilliertes Wasser durchgesaugt, oder wenn eine Konservierungsflüssigkeit zugesetzt wird. Dabei erscheint nach kurzer Einwirkung (bis zu $^1/_4$ Stunde) von Salzsäure in den meisten Kernen neben Nucleolenresten und Körnern eine gleichmäßige körnelige Ausfällung. Nach länger als $^1/_4$stündiger Behandlung der unter Deckglas befindlichen Kerne erscheint der körnelige Niederschlag nicht mehr bei Zusatz von destilliertem Wasser oder bei der Konservierung.

Die Epithelkerne der Kiemenblättchen verhalten sich der Säure gegenüber ebenso wie die der Schwanzflosse, mit dem Unterschiede, daß bei ihnen der Inhalt schon spätestens 2 Minuten nach Zusatz verschwindet. Auch hier finden sich zuweilen in manchen Kernen noch einige wenige Körnchen in Brownscher Bewegung und Reste (anscheinend Schalen) der Nucleolen. Eine körnelige Ausfällung tritt bei ihnen schon nach einer Einwirkungsdauer der Salzsäure von 10—15 Minuten nicht mehr ein.

Dieselben Bilder wie die eben beschriebenen zeigen auch die Kerne der Schnittpräparate von Schwanz- und Kiemenstückchen, die nach $^1/_4$, $^1/_2$, $^3/_4$ und 1stündiger Einwirkung von 38%iger Salzsäure konserviert worden waren. Nach $^1/_4$stündiger Behandlung tritt auch in diesen Kernen keine Ausfällung mehr ein, doch ist in allen eine eben noch sichtbare feinstkörnige (glasige) Masse vorhanden, der Ausdruck der konservierten Grundsubstanz. Die, in manchen der ungefärbten Kerne, beobachteten wenigen Körnchen und Nucleolenreste sind auch hier zuweilen zu sehen, die Nucleolenreste in Gestalt von Ringen oder Schalen. Von den Netzknoten ist nichts mehr wahrzunehmen. In Schnitten von Material, das länger als $^1/_2$ Stunde beeinflußt worden war, sind auch die Körnchen und Nucleolenreste in den Kernen verschwunden und diese selbst stark geschrumpft (Fig. 29 Taf. XV). Eine scharfe Abgrenzung der Kerne ist nicht mehr sichtbar. Eine länger als 1—1$^1/_2$stündige Behandlung der Epidermis mit Salzsäure im Tubus oder Uhrschälchen ist nicht möglich, da nach längerer Beeinflussung das Gewebe vollständig zerfällt.

c) Ammoniak 5%.

Nach Zusatz von 5%igem Ammoniak vergehen ungefähr 2—5 Minuten, bis an den Epithelkernen eine Wirkung auftritt. Die sichtbaren Teile des Kerninhalts werden etwas undeutlicher, allmählich verschwinden die Körner und kleineren Brocken und darauf auch die größeren Netzknoten mit ihren Verbindungen. Auch die Nucleolen sind nach $^1/_4$ Stunde nicht mehr sichtbar, während bis zu dieser Zeit noch Restkörner oder Schalen zu verfolgen waren. Neben diesen Nucleolenresten waren in manchen Kernen wieder die schon mehrfach erwähnten kleinen Körner zu sehen, bei diesen Versuchen in einer Anzahl von 1—10, in einem Falle bis zu 15, die aber nach ungefähr $^1/_4$ Stunde ebenfalls nicht mehr wahrzunehmen waren. In Kernen, in denen im Leben Oxychromiolen sichtbar waren, verschwanden diese nach derselben Zeit auch.

Währenddem quillt die Zelle ziemlich stark und gleichzeitig oder kurze Zeit danach der Kern. Die Quellung der Zelle geht schließlich so weit, daß sie platzt und ihren ganzen Inhalt mit dem Kerne nach außen entleert. Die Kerne verändern sich dabei, wenn sie nicht ebenfalls platzen derart, daß sie nicht weiter verfolgt werden können. Bei den an der Peripherie der Stückchen liegenden Zellen geht dies schneller vor sich, als bei solchen, die mehr in der Mitte eines Kiemenblättchens oder Schwanzstückchens liegen. Das Entleerte bildet einen schleimigen, durchsichtigen Überzug, der beim Konservieren milchweis wird und Kiemen und Schwanz anhaftet.

Die Kerne haben in den durch die Quellung meist kreisrunden Zellen

nicht oft runde Gestalt, sondern alle möglichen Formen. Bei Zellen, die nach einer stärkeren Quellung auf einem bestimmten Stadium (bis zu $^1/_2$ Stunde) verharrten, nahm der allmählich aufquellende Kern meist die eine Seite der Zelle ein, während der Zellinhalt auf die andere gedrängt wurde.

Werden diese nicht geplatzten, widerstandsfähigeren Zellen nach $^1/_4$ Stunde konserviert, so tritt in den Kernen Ausfällung ein, bestehend aus kleinen Brocken, Körnern und Teilen der Nucleolen. Oxychromiolen erscheinen in den betreffenden Kernen ebenfalls wieder. Die Grundsubstanz bildet in den meisten Kernen ein Wabenwerk, in dessen Wänden die Brocken und Körner liegen.

Bei Konservierung nach $^1/_2$- und 1stündiger Beeinflussung treten Kerne auf, wie Fig. 30 einen darstellt, die an Fig. 12 Taf. XV (s. auch Textfig. 4) erinnert, mit mehr oder weniger auseinandergeflossener Grundsubstanz. Da bei *Limnaea* ähnliche Bilder erst viel später aufgetreten waren, ist hier also eine raschere Lösung der Membran erfolgt. Die Netzknoten- und die Nucleolenreste sind von den Chromatinkörnchen nicht zu unterscheiden. Ob an manchen der letzteren vollständig oder teilweise Lösung eingetreten ist, wie einige Körnchen, die kleiner als im Normalen sind, annehmen lassen, ist nicht festzustellen. Eine länger als 1stündige Beeinflussung halten die meisten Zellen und Kerne nicht aus, ohne zu zerfließen. In den Kontrollschnitten sind die meisten Kerne sogar schon nach $^1/_4$ Stunde vollkommen zerstört. Vorher zeigen sie dasselbe, wie die eben beschriebenen Kernbilder.

d) Natriumcarbonat 10 %.

Nach Zusatz von Natriumcarbonat tritt ebenfalls eine sehr starke allmähliche Quellung der Kerne auf, doch geht diese nicht so weit, daß ein Platzen derselben erfolgt. Die Skizze (Textfig. 10) stellt die bei der gleichen Vergrößerung mit dem Zeichenapparat festgelegte Kontur eines gequollenen, und die desselben Kernes in normalem Zustand dar. Der Kerninhalt quillt ebenfalls, doch sind in der ersten Viertelstunde noch Netzknoten und zahlreiche schwach lichtbrechende Körner, die sich in Brownscher Bewegung befinden, zu sehen. Auch später (nach 1 Stunde) sind noch einige Körnchen und Brocken wahrzunehmen. Die Nucleolen werden nach $^1/_4$ Stunde undeutlich, verschwinden aber in den meisten Kernen nicht, das Gleiche gilt von den Oxychromiolen in Kernen, in welchen sie im Normalen festgestellt wurden.

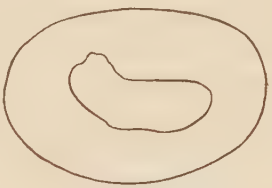


Fig. 10.
Umfang eines normalen Epidermkernes von Triton (innen), und desselben, $^1/_4$ Stunde nach Zusatz von 10% kohlens. Natron (außen).

In einigen Kernen waren »Falten« sichtbar, wie sie auch bei den Versuchen mit 10%iger Kochsalzlösung auftreten (s. Fig. 34 Taf. XVI), überhaupt zeigen die Kerne einige Ähnlichkeit mit den dort beschriebenen Bildern, so fanden sich auch hier Kerne mit in der Mitte zusammengeschobenem Inhalt (Fig. 32 Taf. XVI). Nach ungefähr 3stündiger Einwirkung geht die Quellung der Kerne etwas zurück und die vorher kaum oder schwach sichtbaren Körner und Nucleolen werden deutlicher. Eine weitere Änderung erfolgt später nicht mehr.

Bei Konservierung nach kurzer Zeit ($^1/_4$ und $^1/_2$ Stunde) erscheint der Kerninhalt wenig verändert wieder und die Grundsubstanz zeigt wabige Anordnung. Nach längerer Zeit (1 Stunde) sind die Netzknoten kleiner geworden und die Nucleolen bestehen meist aus einem kleinen Brocken, der in geringem Abstand von einer Schale umgeben wird. Die ausgefällten Chromatinkörner liegen meist in den Wänden der wabigen Grundsubstanz eingebettet und scheinen unverändert. Bei späteren Konservierungen schrumpfen die Körner stärker als zu Anfang. In der Größe der ausgefällten Chromatinkörnchen sind keine Unterschiede zu erkennen. Die Nucleolen sind meist noch vorhanden, aber stark verändert und infolgedessen nur schwer wiederzufinden.

Außer stärkerer Schrumpfung zeigen die Kerne der Schnitte keine Verschiedenheit von den eben beschriebenen. Fig. 31 Taf. XVI stellt einen nach 1stündiger Behandlung mit Natriumcarbonat konservierten und Fig. 33 Taf. XVI einen nach 3stündiger Einwirkung konservierten Epithelkern dar; bei letzterem sind die Strukturteile in der Kernmitte zusammengeschoben.

e) Kochsalzlösung 10%.

Bei den Versuchen mit 10%iger Kochsalzlösung waren ihrem Verhalten nach 2 Arten von Kernen zu unterscheiden. Einmal solche, in welchen eine mehr oder weniger starke Quellung der Netzknoten, ihrer Verbindungen und der Chromatinkörner stattfand. Auch die Nucleolen waren in ihnen nach längerer Zeit verändert und zwar blieb entweder noch eine Schale, die nach 3 Stunden noch konstatiert werden konnte übrig (dies war am häufigsten der Fall) oder man sah noch einen Restbrocken.

Dann traten zweitens Kerne auf, in welchen der ganze sichtbare Inhalt in der Kernmitte auf einem wabigen Klumpen zusammenlag (Fig. 33). Das Zusammengedrängte war entweder von länglicher oder runder Gestalt. Die Strukturteile des Kernes werden demnach durch die eindringende Kochsalzlösung von der Membran zurückgedrängt, entweder mehr von zwei Seiten oder mehr allseitig (Textfig. 11a). Dabei hinterläßt die zusammengedrängte Substanz Spuren

in Gestalt von äußerst feinen Fädchen, wie eines z. B. in Fig. 35 Taf. XVI dargestellt ist. In dem Raume zwischen der Masse und der Membran war außer den Fädchen entweder nichts mehr wahrzunehmen, oder es fanden sich einige Körner und Brocken, oder nur wenige Körner darin.

a b

Fig. 11.

Epidermiskerne von Triton,
a nach ½ stündiger Behandlung mit NaCl 10%, frisch, b konserviert nach 1. Stunde.

Diese Brocken waren den im geschädigten Tritonkern beschriebenen pseudochromatischen Klumpen sehr ähnlich und sind sehr wahrscheinlich mit ihnen identisch (ev. auch die Körner), also erst sekundär entstanden und an ihren Platz gelangt. Der in der Kernmitte zusammengedrängte sichtbare Inhalt verschwand in manchen Kernen durch Quellung fast vollständig, in anderen blieb er ungequollen (Fig. 33 Taf. XVI). In Epithelkernen des Schwanzes fanden sich außer diesen 2 Kernarten häufig noch solche mit einem Wabenwerk, oder Kerne, wie Fig. 34 Taf. XVI einen darstellt. Die Oxychromiolen wurden durch die Lösung nicht verändert.

Bei Konservierung der verschieden lange behandelten Kerne unter Deckglas tritt feinkörnelige Ausfällung ein. In den Kernen der ersten Art erscheinen außerdem die Nucleolen wieder, wenig verändert und wie oben beschrieben, daneben auch Netzknoten, aber bedeutend kleiner als im Normalen und einzelne Körner. Zuweilen waren noch Verbindungen zwischen einzelnen Netzknoten vorhanden.

In den Kernen der zweiten Art tritt bei der Konservierung der zusammengedrängte Inhalt deutlich hervor, meist als ein Wabenwerk mit Körnchen und kleinen Brocken dazwischen, wie dies Fig. 35 zeigt. Die feinkörnelige Ausfällung erfolgt bei ihnen in dem Raume zwischen dem Zusammengedrängten und der Membran.

Nach längerer Beeinflussung (1, 3 Stunden und mehr) erscheinen beim Konservieren in den Kernen der ersten Art keine Netzknoten mehr, aber eine körnelige Ausfällung und Nucleolenreste. In manchen Kernen,

besonders solchen der Schwanzflosse, treten wabenartige Bildungen auf, wie dies ähnlich bei *Limnaea* der Fall war (Fig. 36 Taf. XVI). In den Kernen der zweiten Art erscheinen ebenfalls nur noch Körnchen und Nucleolenreste und keine Netzknoten mehr. In der Größe der ausgefällten Körnchen treten deutliche Unterschiede auf. Eine Kernmembran ist nach 24stündiger Einwirkung noch vorhanden, wie an Falten, bei hoher oder tiefer Einstellung, zu sehen ist. Nach 3stündiger Beeinflussung trat an Kernen mit sichtbaren Strukturteilen beim Konservieren keine Änderung ein, sie blieben vielmehr nach wie vor, höchstens schrumpften sie etwas.

Kontrollschnitte von Material, das nach $^1/_2$, 1, 3 und 24 Stunden konserviert worden war, zeigen in den Kernen im wesentlichen keine Unterschiede von den eben geschilderten Kernen der Totalpräparate. Fig. 35 Taf. XVI stellt einen Epithelkern der Schwanzflosse dar, der nach 1stündiger Beeinflussung konserviert worden war. Die Strukturteile sind in der Kernmitte zusammengedrängt; die Netzknoten sind bereits stark verändert und nicht mehr festzustellen (Textfig. 11b). Die Grundsubstanz ist in feinen Körnchen ausgefallen. Auch in dem Kerne der Fig. 36 sind die Netzknoten nicht mehr nachzuweisen und ebenso die Nucleolen. Die Chromatinkörnchen scheinen unverändert. Die ebenfalls in feinen Körnchen ausgefällte Grundsubstanz läßt durch die Schrumpfung der Kerne das Innere vollständig dunkel erscheinen.

D. Unio batavus und Anodonta cygnea.

1) Untersuchung der lebenden und konservierten Keimbläschen.

Die Untersuchungen der *Unio*- und *Anodonta*-Eier wurden, wie dies im methodischen Teile erwähnt ist, in Ovarialflüssigkeit ausgeführt, da künstliche Flüssigkeiten nach kürzerer oder längerer Zeit nachteilige Wirkungen, vor allem Schrumpfungen hervorriefen. Die Eier wurden in einem Tropfen der Ovarialflüssigkeit auf einen Objektträger gebracht und dann unter dem Binocular mit spitzen Nadeln angestochen. Dabei zeigte sich, daß das Ei eine verhältnismäßig widerstandsfähige und elastische Membran besitzt, da erst dann ein Loch entstand, wenn die Membran von der Nadel senkrecht getroffen wurde. Das Plasma mit den Dotterkörnchen quillt darauf zusammen mit dem Keimbläschen heraus. Beim Passieren der Öffnung in der Eimembran kann sich, besonders wenn diese klein ist, das Keimbläschen in die Länge ziehen, um sich nach dem Durchgange wieder abzurunden. Nach einiger Übung gelingt es auch, das Keimbläschen zu öffnen, was, wie oben (s. Methode) schon angedeutet, auf zweierlei Art ausgeführt wurde, einmal ebenfalls durch Anstechen mit

einer sehr feinen Nadel und dann durch Strömungserregungen. Bei letzterem Verfahren wurde die Nadelspitze langsam in die Nähe eines Keimbläschens gebracht, das vorher festgelegt worden war. Das Festlegen ist einfach dadurch zu bewerkstelligen, daß man das Keimbläschen an den Rand des Flüssigkeitstropfens bringt, wo es dann meist an der Unterlage haften bleibt. Bewegt man nun die Nadel rasch von dem Keimbläschen weg, so bringt die dadurch erzeugte Strömung dieses zum Platzen. In beiden Fällen quillt dann der Inhalt, indem einige größere und kleinere Körner, die Nucleolen, zu sehen sind, heraus, was nicht zu rasch und nicht zu langsam erfolgt. Das Keimbläschen fällt dabei zusammen und ein feines Häutchen, das sich meist etwas faltet, bleibt zurück. Leider reicht die stärkste Vergrößerung des Binoculars nicht aus, um den herausquellenden Inhalt genauer untersuchen zu können. Es wurde dies deshalb am nicht geöffneten inner- und außerhalb des Eies befindlichen Keimbläschens mit dem Aprochromaten 1,5 mm ausgeführt, dabei wurde wieder auf schnelle Herstellung der Präparate großer Wert gelegt.

Außer den bereits festgestellten Nucleolen fanden sich nun hierbei noch zahlreiche kleinere und größere Körnchen, die von einer gewissen Größenklasse abwärts Brownsche Bewegung zeigten. Die Fig. 37a u. b Taf. XVI sind nach eiligen Skizzen hergestellt und zeigen normale Keimbläschen in den ersten 5 Minuten (vom Aufschneiden des lebenden Tieres an gerechnet). Von den zahlreichen Nucleolen möchte ich, im Anschluß an Flemming, den größten als Hauptnucleolus und die anderen kleineren als Nebennucleolen bezeichnen. Der Hauptnucleolus besteht, wie in der Figur zu sehen ist, und wie dies von Flemming und O. Hertwig schon beschrieben wurde, aus 2 verschiedenen Teilen, einem kleineren stärker lichtbrechenden und stärker tingierbaren und einem größeren blasseren und schwächer färbbaren. Die kleineren Nebennucleolen zeigen die gleiche Lichtbrechung und Tingierbarkeit wie der große Teil des Hauptnucleolus. Beide Nucleolenarten enthalten größere und kleinere Vacuolen, deren Zahl sehr verschieden sein kann. Der größere Teil des Hauptnucleolus erscheint, wie auch in der Figur angedeutet ist, gegen den kleineren abgeplattet und beide scheinen von einer Schale umgeben zu sein. Bei starkem Druck auf das Deckglas war es nicht möglich, Doppelnucleolen, welche dem in Fig. 37a Taf. XVI ähnlich waren, aus dem Zusammenhange zu bringen. Beide dehnen sich durch den Druck stark aus und ziehen sich nach Aufhebung desselben, einer teigartigen Masse gleich, wieder zusammen.

Neben Doppelnucleolen kamen in älteren Eiern auch (aber selten) Nucleolen vor, bei welchen 3 und 4 Teile zusammenhingen (Fig. 37b Taf.

XVI), während im jungen Eierstocksei, wie dies auch Flemming schon beschrieben hat, der große Kernkörper nur aus einem Teil besteht.

Die Fig. 38—41 Taf. XVI sollen die Wirkungen zeigen, welche verschiedene Konservierungsflüssigkeiten im Keimbläschen hervorrufen. Am besten und der Wirklichkeit wohl am nächsten kommend, dürfte das mit Herrmannscher Flüssigkeit konservierte Keimbläschen ausgefallen sein (Fig. 38). Schon sehr verschieden davon erscheint Fig. 39, ein mit Flemming (stark) behandeltes Objekt. Die Flüssigkeit ist, wie auf den Schnitten deutlich festgestellt werden konnte, von der linken Seite zuerst in das Präparat und das Keimbläschen eingedrungen und hat den Inhalt mehr nach der rechten Hälfte gedrängt. Gleichzeitig lehren diese Figuren noch, daß Essigsäuregemische zur Konservierung dieser Keimbläschen zu vermeiden sind, da Essigsäure, wie dies schon bekannt ist (Flemming, O. Hertwig) eine starke Wirkung auf die Nucleolen, besonders auf den größeren blasseren Teil des Hauptnucleolus ausübt.

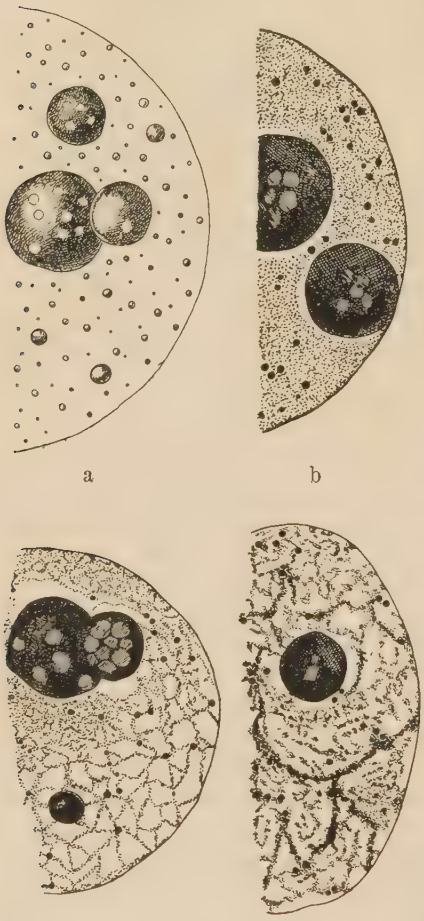


Fig. 12.

Teilansichten des Keimbläschens von Unio, a lebend, b konserviert in Hermannscher Lösung, c in Flemmingscher, d in Zenkerscher. b—d aus Schnitten.

Nach Flemming und O. Hertwig läßt Essigsäure von 2—5% den größeren, blasseren Teil des Hauptnucleolus rasch aufquellen und ganz oder beinahe verschwinden, während der kleine, glänzende auch etwas quillt, aber noch deutlich zu sehen ist. O. Hertwig gibt dann weiter an, daß sich der größere blassere Teil bei Anwendung von stärkerer Essigsäure vollständig auflöse, während der kleinere noch erhalten bleibt, sich aber bei einer weiteren Konzentration der Säure ebenfalls löst. In Essigsäure unter 0,25% schrumpft

dagegen der glänzende Teil des Hauptnucleolus nach Flemming und wird körnig, während der blasse Teil und die Nebennucleolen in verblaßtem Zustand erhalten bleiben. Endlich hat Flemming noch festgestellt, daß bei Anwendung der 5 %igen Essigsäure der ganze Kern aufquillt, nach Zusatz der schwachen aber etwas schrumpft.

Ziemlich verschieden von den anderen ist das mit Zenker konservierte Keimbläschen, Fig. 40a Taf. XVI. Neben einer feinkörnelig rinseligen Grundmasse ist hier noch ein Gerüstwerk erzeugt worden, in dem die Chromatinkörnchen eingebettet sind. Ein zweites ebenfalls mit Zenker konserviertes (Fig. 40b) zeigt die trotz gleicher Konservierung bei ungleich großen, also wohl verschieden alten Keimbläschen oft auftretenden Verschiedenheiten. Andere Sublimatgemische ergeben oft starke Veränderungen. Gute Bilder lieferte noch Pikrinsalpetersäure (Fig. 41 Taf. XVI), die dann auch den Osmiumgemischen vielfach vorgezogen wurde, da die mit den letzteren konservierten Keimbläschen schwer färbbar sind.

Bei Anwendung von Kernfarbstoffen färbt sich, wie bereits bekannt und wie dies auch in den Figuren angedeutet wurde, der stark lichtbrechende Teil des Hauptnucleolus besonders intensiv, weniger der andere; und in gleicher Weise wie dieser letzte auch die Nebennucleolen. Um die Nucleolen ist auch im Schnittpräparat ein dunkler Ring (Schale) zu sehen, besonders deutlich meist bei den stark chromatischen. Die größeren Nucleolen sind fast alle vacuolisiert, doch fanden sich auch unter den großen schwach färbbaren solche ohne Vacuolen. Die größeren Körner färben sich mit den Kerntinktionen stark, wenn wir sie also in der üblichen Weise bezeichnen wollen, müssen wir sie Chromatinkörper nennen; die feineren Körnchen nehmen dagegen keine Farbe an.

2) Lösungsversuche.

a) Wirkungen des destillierten Wassers.

Die in den Keimbläschen durch destilliertes Wasser hervorgerufenen Änderungen sind je nach Kernindividuen verschieden. Die Körnchen quellen entweder und verschwinden ganz oder sie bleiben schwach lichtbrechend sichtbar und sind, sofern sie sich nicht zu einzelnen Strecken oder Inseln zusammenlagern, in lebhafter Brownscher Bewegung. Ein solches Zusammenlagern der Körnchen tritt erst nach einiger Zeit auf. Nach 24 Stunden wurde häufig die Lichtbrechung der Körnchen in den Keimbläschen mit wenig gequollenem Inhalt stärker und die Brownsche Bewegung hörte auf. Ihr Inhalt war demnach gelatiniert, wie auch durch Zerdrücken der Keimbläschen leicht festzustellen war. In den anderen Keimbläschen dagegen war keine Änderung eingetreten. Fig. 42 Taf. XVI

stellt ein Keimbläschen von *Unio* nach 2stündiger Behandlung dar. Neben Körncheninseln und -strecken, in denen auch die Nebennucleolen eingelagert sind, finden sich zwischen diesen noch zahlreiche schwach lichtbrechende freie Körnchen — deren Zahl jedoch meist geringer ist als in diesem Fall. Ein scharfer Unterschied zwischen 2 Größenstufen ließ sich bei den Lösungsversuchen meist nicht mehr machen, so daß hier wie im folgenden Abstand davon genommen ist, über die kleineren Körnchen des lebenden Kerns besondere Aussage zu machen.

Die Nucleolen hatten sich hier, wie nicht selten, kaum verändert. Der größere blasse Teil des Hauptnucleolus ist wenig gequollen und wie der kleinere, an dem eine andere Änderung nicht wahrgenommen wurde, stark vacuolisiert. In den meisten Fällen quillt der große blasse Teil des Hauptnucleolus stärker und zeigt dann eine Menge kleine Vacuolen (ähnlich wie dies letztere in der Fig. 42 Taf. XVI dargestellt ist), während vorher nur ganz wenige sichtbar waren. Die Quellung des Nucleolus bewirkt demnach auch eine solche, sowie eine Vermehrung, der Vacuolen. Zuweilen ist die Quellung dieses Teiles so stark, daß er fast verschwindet. Nach einigen Stunden (3—6) tritt dann oft wieder Schrumpfung ein, durch die seine Oberfläche runzelig wird. Dasselbe Verhalten zeigen auch die kleinen Nebennucleolen. Der kleinere stark lichtbrechende Teil schrumpft etwas und wird dadurch noch stärker glänzend. Nach ungefähr 24 Stunden wurden die Keimbläschen kleiner; zu Anfang (nach Wasserzusatz) waren sie ein wenig gequollen. Ob also der Kernsaft beim Baden der Zelle in Wasser selbst wasserreicher wird, oder die Veränderungen indirekt bewirkt sind, steht nicht sicher. Doch spricht ein Vergleich der, beide mit Zenker konservierten, Fig. 40a und 44 Taf. XVI für eine Extraktion von Kerninhalt bei der letzten (vgl. Textfig. 13a), was wohl eine Folge von Wassereintritt sein mag.

Bei Konservierungen unter Deckglas treten Bilder auf, ähnlich dem in Fig. 42 dargestellten Keimbläschen, mit dem Unterschiede, daß in dem Raume zwischen den Körncheninseln und der Membran eine starke feinkörnelige und rinselige Ausfällung eintritt. Die Quellung des größeren Teiles vom Hauptnucleolus geht wieder zurück und zuweilen wird seine Oberfläche faltig.

Die Kernbilder der Kontrollschnitte von Eiern, die nach $^1/_2$, 1 und 3 Stunden konserviert worden waren, unterscheiden sich kaum von normal konservierten Keimbläschen. Nach kürzerer Beeinflussung ist die Ausfällung (Körnchen und Gerinnsel) noch ziemlich regelmäßig, später mehr in Gestalt eines engen Maschen- oder gröberen Gerüstwerkes angeordnet. Die Chromatinkörnchen treten vermöge ihrer Färbung deut-

lich hervor und sind unverändert. Die Figuren 43 und 44 Taf. XVI zeigen 2 Keimbläschen, die beide nach 24stündiger Beeinflussung mit Wasser konserviert wurden. Das der Fig. 44 ist bedeutend geschrumpft und weist auf teilweises Herausdiffundieren des Kernsaftes hin. Der chromatische Nucleolus ist nicht angegriffen, dagegen ist von dem achromatischen im Keimbläschen der Fig. 43 nur noch ein kleiner Rest vorhanden; die Nebennucleolen sind ganz verschwunden. Der »achromatische« zeigt sich also dem Chromatin der Autoren weniger ähnlich wie der achromatische! Die vorläufig als »Chromatinkörnchen« bezeichneten Körperchen sind aber anscheinend auch nicht angegriffen. Der Kernsaft ist in feinen engen Maschen ausgefällt worden; der der anderen Figur feinkörnelig gerüstartig.

b) Salzsäure 38%.

Nach Zufließen der Salzsäure zu den Eiern quellen manche Keimbläschen etwas und gleichzeitig auch die Körnchen und Nucleolen, andere Keimbläschen dagegen schrumpfen ein wenig; während die Körnchen und Nucleolen zu Anfang noch schwach lichtbrechend sichtbar sein können, sind sie nach einiger Zeit ($^1/_2$—1 Stunde) vollkommen verschwunden. Die Keimbläschenmembran war nach 1 Stunde noch vorhanden, wie an Faltungen und Dellen, die durch anstoßende Brocken an freischwimmenden Keimbläschen hervorgerufen wurden, zu sehen war. Nach 3stündiger Einwirkung war sie bei vielen gelöst (Fig. 46 Taf. XVI). Neben diesen Keimbläschen ohne jeglichen sichtbaren Inhalt nach Säurezusatz fanden sich, wie gesagt, auch solche, in denen die Körnchen zu Inseln und Strängen zusammengelagert wenig gequollen sichtbar blieben. Von den Nucleolen dieser Keimbläschen quellen der große blasse Teil des Hauptnucleolus ebenso die Nebennucleolen auch und verschwinden meist, während der kleinere stark lichtbrechende Teil momentan ebenfalls unter Größerwerden der Vacuolen quillt, um bald darauf wieder zu schrumpfen. Allem Anscheine nach war die Membran dieser Keimbläschen für konzentrierte Salzsäure nur zum Teil durchlässig. Auch bis zu 6 Stunden war trotz langsamem stetigen Durchfließen der Säure unter dem Deckglase keine Änderung in ihnen eingetreten. Beim Öffnen solcher Keimbläschen in der Salzsäure erfolgte kein Herausquellen des Inhaltes, es trat vielmehr feinkörnelig rinselige Ausfällung in ihnen ein, und die Körner und Nucleolen wurden deutlicher.

Wurden die zuerst beschriebenen Keimbläschen, deren Membran für Salzsäure offenbar vollkommen durchlässig war, nach $^1/_2$stündiger Beeinflussung konserviert, so trat regelmäßige feinkörnelige und rinnselige Ausfällung ein, zwischen der die Chromatinkörnchen verstreut lagen,

die in der Größe von den im normalen Keimbläschen gesehenen nicht abwichen. Von den Nucleolen, die ebenfalls wieder erschienen, war der große blasse Teil des Hauptnucleolus und die Nebennucleolen bereits stark angegriffen, weniger der stärker lichtbrechende (»chromatische«!). Beide waren geschrumpft und der größere Teil im Innern wabig. Bei Konservierung nach 1, 3 und 6 Stunden waren nur noch Reste der stark lichtbrechenden vorhanden, während der schwach lichtbrechende und die Nebenucleolen nicht mehr festgestellt werden konnten. In der Größe der »Chromatinkörnchen« waren Unterschiede zu bemerken und soweit festgestellt werden konnte, war an manchen teilweise oder völlig Lösung eingetreten.

Fig. 45 Taf. XVI stellt einen Schnitt durch ein Eierstocksei von *Anodonta* dar, das nach $^1/_2$stündiger Säureeinwirkung konserviert worden war. Das Keimbläschen ist stark gequollen und hat das Eiplasma auf einen schmalen Saum zusammengedrängt. Das Innere ist mit zahlreichen feinen achromatischen Körnchen erfüllt, zwischen denen die Chromatinkörner liegen. Von den Nucleolen ist nur noch ein chromatischer Rest vorhanden, der auf der linken Seite eine deutliche Begrenzung zeigt, die oben sehr wahrscheinlich gelöst war, da die Nucleolarsubstanz einer teigartigen Masse gleich nach dieser Seite geflossen ist und von der Konservierungsflüssigkeit feinkörnelig niedergeschlagen wurde.

Nach 3stündiger Beeinflussung der Eier fanden sich in Schnitten nur noch in ganz wenigen Keimbläschen geringe Reste von Nucleolen in der Gestalt größerer Körnchen. Die Chromatinkörner hatten sich zum Teil wohl gelöst, da ziemlich viele Körner, kleiner als im Normalen, vorhanden sind (Fig. 46 Taf. XVI). Daß ein Auswaschen von Chromatin und Ansammeln am Rande des Keimbläschens stattgefunden hat, wie die Fig. 46 zu lehren scheint, ist möglich, aber nicht mit Sicherheit nachzuweisen. Die Keimbläschenmembran ist gelöst, wie besonders auf der rechten Seite deutlich zu sehen ist. Eine länger als 3stündige Behandlung der Eier im Tubus war nicht möglich, da dann das Bindegewebe zerfiel.

c) Ammoniak 5%.

Die Reaktion der Keimbläschen auf 5% Ammoniak erfolgte auf dreierlei Art und Weise. Bei einigen Keimbläschen trat nach Zusatz eine schwache Quellung auf, und ebenso quollen auch der große blasse Teil des Hauptnucleolus und die Nebennucleolen, während an dem kleinen stark lichtbrechenden Teil keine Änderung zu bemerken war. Die Körnchen waren in diesen Keimbläschen kaum oder gar nicht gequollen und befanden sich gleich zu Anfang in Brownscher Bewegung. Der ganze Inhalt war also noch wenig verändert sichtbar.

Eine zweite Art von Keimbläschen reagierte in der Weise, daß sie nach Ammoniakzusatz allseitig etwas schrumpften, ihre Contur dadurch aber nicht deutlicher, eher undeutlicher wurde. In ihnen quollen der schwach lichtbrechende Teil des Hauptnucleolus und die Nebennucleolen ganz bedeutend, während der kleine stark lichtbrechende Teil stark schrumpfte (Fig. 47 Taf. XVI). Um die geschrumpfte Masse des letzteren liegt ein von Substanz freier, heller, nach außen scharf abgegrenzter Hof, wie dies auf der Figur zu sehen ist. Im übrigen waren in diesen Keimbläschen meist noch einige wenige Körnchen sichtbar. Nach ungefähr

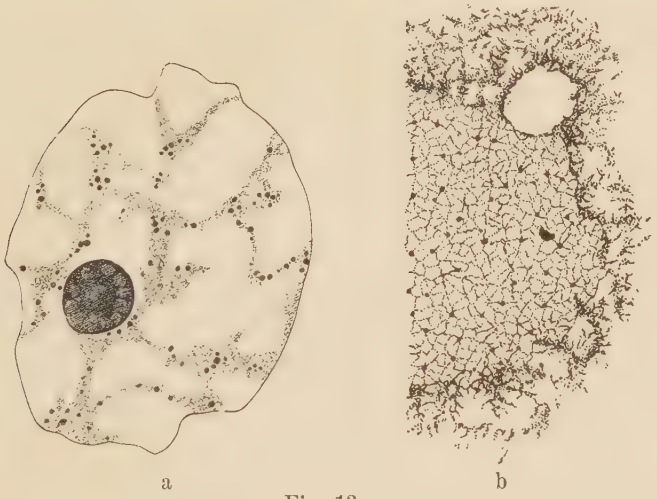


Fig. 13.

Schnitte des Keimbläschens von Unio, in »Zenker« konserviert, a nach 24 Stunden in Wasser, b nach $^1/_2$ Stunde in Ammoniak (mit Plasmaausschnitt).

$^1/_2$—1 Stunde war in einigen der Keimbläschen eine gleichmäßige feinkörnelige Ausfällung eingetreten, während sich alles übrige nicht geändert hatte. Der große blasse Teil des Hauptnucleolus war, wie sich bei manchen dieser Keimbläschen zeigte, nach 3stündiger Einwirkung im Innern teigartig, da er, bei Druck auf das Deckglas, alle möglichen Formen annahm und auch beibehielt. Die Membran dieser Keimbläschen war nach 3 Stunden noch vorhanden, wie sich an Faltungen zeigte.

Eine dritte Art von Keimbläschen quoll nach Ammoniakzusatz sehr stark und der ganze Inhalt verschwand durch die Quellung für das Auge vollständig. Der Durchmesser eines mittelgroßen Keimbläschens, das nach der Quellung mit gleicher Vergrößerung wie Fig. 47 skizziert wurde, mißt in der Skizze 5,4 cm. Es war aber vielfach nicht mehr möglich, die Außengrenze der so stark gequollenen Keimbläschen fest-

zustellen. Die Membran hatte sich, bei einigen anscheinend nach $^1/_2$ bis 1 Stunde, gelöst.

Während bei der ersten Art der Keimbläschen offenbar keine Ammoniakwirkung vorliegt, die Membran also anscheinend für Ammoniak undurchlässig war, scheint in den beiden letzten Fällen, besonders in dem dritten, der auch mit den bei *Triton* und *Limnaea* auftretenden Wirkungen übereinstimmt, Ammoniak wirklich eingedrungen zu sein.

Beim Konservieren nach $^1/_2$, 1 und 3stündiger Einwirkung schrumpfen diese Keimbläschen und ihre Kontur wird wieder deutlich sichtbar. Im Innern erfolgt feinkörnelige Ausfällung und dazwischen erscheinen die Chromatinkörnchen teilweise kleiner wieder (Fig. 48 Taf. XVI). Von den Nucleolen war der große blasse Teil des Hauptnucleolus wabig oder netzartig innen, mit einigen Körnchen, während der stark lichtbrechende Teil meist körnelig oder brockig war. Nach 3stündiger Behandlung konnte nichts mehr mit Sicherheit festgestellt werden, da die Keimbläschenmembran gelöst war und der Inhalt sich teilweise mit dem Eiplasma vermischt hatte.

Auf den Kontrollschnitten finden sich nach $^1/_2$ und 1stündiger Einwirkung Keimbläschen, wie solche in Fig. 48 und 49 Taf. XVI dargestellt sind. Eine Membran ist hier schon nach $^1/_2$ Stunde nicht mehr vorhanden, doch haben sich die Keimbläschen, in welchen der Kernsaft als ein netzartig angeordnetes Gerinnsel ausgefallen ist, noch nicht mit dem Plasma vermischt. Die Chromatinkörnchen sind noch vorhanden, nach längerer Beeinflussung zum Teil aber kleiner als im Normalen. Von dem chromatischen Teil des Hauptnucleolus sind in Fig. 48 noch 2 kleinere Brocken zu sehen, statt des achromatischen dagegen der leere, doch noch abgegrenzte Raum (Textfig. 13b, S. 327). Sein Inhalt ist demnach unter Quellung in Lösung übergegangen und nach außen diffundiert oder hat sich in der Grundsubstanz gelöst. Auf Schnitten, deren Material 3 Stunden und länger behandelt worden war, ist in den Keimbläschen absolut nichts mehr vorhanden und diese selbst sind als helle runde oder ovale Räume im Eiplasma sichtbar.

d) Natriumcarbonat 10%.

Natriumcarbonat ruft an den Keimbläschen zweierlei verschiedene Wirkungen hervor, einmal tritt eine minimale Schrumpfung auf, das andere Mal wurde bei einigen Versuchen an manchen eine schwache Quellung beobachtet. Die Chromogranula werden bald nach Zusatz schwächer lichtbrechend und verschwinden entweder ganz oder bis auf wenige Körnchen. Diese wenigen bleiben dann meist in den betreffenden Keimbläschen auch bis zu 6 und 24 Stunden schwach lichtbrechend sichtbar. Beide

Nucleolenarten quellen sofort nach Zutritt der Lösung stark, unter Größerwerden der Vacuolen, und sind in den meisten Fällen schon nach einigen Sekunden nicht mehr zu sehen. In manchen Keimbläschen trat ebenfalls starke Quellung der Nucleolen auf, die jedoch nicht so kräftig war, daß diese vollständig verschwanden, vielmehr blieb die Contur des Hauptnucleolus eben noch sichtbar. Während also in vielen Keimbläschen bald nach Zusatz von Sodalösung der ganze Inhalt für das Auge verschwunden ist, sind in einigen ein paar Körnchen. oder die Contur des Hauptnucleolus oder beides zusammen noch vorhanden und hierin trat am umrandeten Präparat bis zu 24 Stunden nur in bezug auf die Nucleolen eine kleine Änderung auf. Nach 6—24 Stunden konnte nämlich in Keimbläschen, in welchen die Nucleolen völlig verschwunden gewesen waren, ihre Quellung zurückgehen und die Conturen, besonders die des Hauptnucleolus, deutlich werden.

Bei Ausfällung nach kurzer Einwirkung ($^1/_2$ und 1 Stunde) von Natriumcarbonat schrumpfen manche Keimbläschen etwas und die Chromatinkörnchen treten wieder deutlich und unverändert inmitten einer rinnseligen Ausfällung zutage. Die Nucleolen erscheinen ebenfalls wieder, sind aber im Innern verändert und zwar ist die Nucleolarsubstanz meist zusammengezogen und nach außen hin scharf begrenzt. Nach 3-, 6stündiger und längerer Beeinflussung treten bei der Konservierung unter Deckglas im Innern der Keimbläschen Falten und Waben auf, denen die wenig veränderten Chromatinkörnchen anhängen. Die Nucleolen waren häufig, der Waben wegen, nicht mehr mit Sicherheit wiederzufinden, besonders nach längerer Behandlung. Wo sie aber deutlich hervortraten, war ihr Aussehen dem der oben beschriebenen ähnlich. Es erschien wieder eine scharfe Abgrenzung mit einigen Körnchen und Gerinnsel darin, so daß es auch hier den Anschein hat, als wäre die Nucleolursubstanz zum Teil, bei manchen, nach langer Einwirkung, anscheinend ganz hinwegdiffundiert.

Dies zeigt sich auch deutlich auf den Kontrollschnitten und ist in Fig. 50 Taf. XVI von einem Keimbläschen, das 1 Stunde im Tubus mit Sodalösung behandelt und dann konserviert worden war, dargestellt. Es ist deutlich eine scharfe Begrenzung des Hauptnucleolus (unsicher, ob des achromatischen Teiles) bestehen geblieben, mit Körnchen und Gerinnseln im Innern. Der Kernsaft ist teilweise in Waben und teilweise als feines Gerinnsel ausgefallen. Hauptsächlich in den Wabenwänden liegen die Chromatinkörnchen, die zum Teil kleiner sind als im Normalen. Bemerkenswert ist noch, daß die Keimbläschenmembran gelöst ist, was nach 1stündiger Beeinflussung auf den Schnitten noch nicht bei allen, nach 3 und

6 Stunden bei allen der Fall ist. Im übrigen unterscheiden sich die Keimbläschen der Schnitte des länger beeinflußten Materials nur wenig von dem der Fig. 50. In vielen ist noch die Schale des Hauptnucleolus mit wenigem, in manchen mit keinem Inhalt zu sehen (Fig. 51 Taf. XVI). Auch in ihnen ist der Kernsaft teilweise in Waben ausgefallen, in deren Wänden die Chromatinkörnchen sitzen, die ebenfalls zum Teil kleiner als im normal konservierten Kern sind.

e) Kochsalzlösung 10%.

In manchen Keimbläschen tritt sofort nach Zusatz von Kochsalzlösung eine Wirkung auf, in anderen erst nach einiger Zeit. Die Chromatinkörnchen verschwinden meist durch Quellung bis auf einige schwach lichtbrechende, welche nach ungefähr 3 Stunden manchmal ebenfalls unsichtbar waren. Die Nucleolen erfahren sofort nach Zusatz der Lösung eine Änderung und zwar quellen beide Arten. Sehr stark der große blasse Teil des Hauptnucleolus und die Nebennucleolen, weniger der chromatische Teil. Die Quellung verändert ihre Lichtbrechung allmählich, in anderen Keimbläschen sofort derart, daß sie nicht mehr zu sehen sind.

Neben diesen Keimbläschen, in welchen der Inhalt nach kurzer Zeit bis auf wenige Körnchen verschwunden war, fanden sich auch solche, in denen außer schwacher Quellung des großen blassen Teiles vom Hauptnucleolus und Zusammenlagern der Körnchen zu Inseln keine Änderung eintrat.

In einigen Keimbläschen der ersten Art waren nach 3—6 Stunden die Körnchen und Nucleolen (beide Arten) nur wenig verändert wieder erschienen. Dasselbe trat bei Konservierungen unter Deckglas nach $^1/_4$-stündiger Beeinflussung ein. Neben »Chromatinkörnchen« war dann noch eine feinkörnelig, rinnselige Ausfällung aus dem Kernsaft vorhanden. In manchen Keimbläschen fanden sich die Körnchen zu Inseln und Balken zusammengelagert. Bei Ausfällungen nach 6 und 24stündiger Einwirkung waren an den Chromatinkörnchen geringe Änderungen wahrzunehmen. Die Nucleolen werden dagegen von der Lösung stark angegriffen. Schon nach $^1/_2$ Stunde erschienen bei der Konservierung in Keimbläschen, in welchen die Nucleolen unsichtbar waren, nur noch einige kleine stärker lichtbrechende Brocken als Reste wahrscheinlich des chromatischen Teiles vom Hauptnucleolus wieder (Fig. 54 Taf. XVI). Von dem achromatischen war noch eine Schale mit geringem Inhalt zu sehen; die Nebennucleolen konnten nicht mehr festgestellt werden. Bei Ausfällungen nach 3 und 24stündiger Einwirkung traten in diesen Keimbläschen ebenfalls kleine glänzende Brocken auf. Reste des achromatischen und der Nebennucleo-

len waren nicht mit Sicherheit nachzuweisen. In den anderen Keimbläschen, in denen die Nucleolen nicht völlig oder doch der große blasse Teil und die Nebennucleolen verschwunden waren, erschienen diese bei der Konservierung nur wenig verändert wieder, der stark lichtbrechende Teil in manchen Keimbläschen geschrumpft. Die Kernmembran war nach 24 Stunden noch vorhanden, wie bei der durch die Konservierungsflüssigkeit hervorgerufenen schwachen Schrumpfung der Keimbläschen zu sehen war.

In den Keimbläschen der Kontrollschnitte sind in den meisten schon nach $^1/_2$ Stunde alle Nucleolen verschwunden und ebenfalls nur noch ein paar chromatische Brocken als Reste wahrscheinlich der stark lichtbrechenden Teile vom Hauptnucleolus vorhanden, wie dies Fig. 52 Taf. XVI, ein nach $^1/_2$stündiger Einwirkung von Kochsalzlösung und Fig. 53 Taf. XVI, ein nach 3stündiger Beeinflussung konserviertes Keimbläschen zeigt. Die »Chromatinkörnchen« sind bis zu 3stündiger Beeinflussung anscheinend unverändert, nach 24 Stunden erscheinen sie zum Teil kleiner als im Normalen. Der Kernsaft ist in feinkörneligem Gerinnsel ausgefallen, das netzartig angeordnet ist.

IV. Allgemeiner Teil.

Aus den geschilderten Beobachtungen und Experimenten lassen sich in sehr vielseitiger Richtung Schlüsse über die Beschaffenheit der Kerne ziehen. Wir wollen hier nicht alle Erwägungen besprechen, zu denen jene benutzt werden können. Es sollen vielmehr nur die herausgegriffen werden, zu deren Aufhellung die Experimente eigentlich im wesentlichen angestellt wurden, und worin wir bereits zu sicheren oder wenigstens gut fundierten Resultaten gelangen können.

A. 1) Schon bei den Beobachtungen des Lebenden treten uns, wie wir oben gesehen haben, Besonderheiten entgegen, welche geeignet sind, unsere Vorstellungen über die Struktur der Kerne beträchtlich zu erweitern. Zunächst weisen die 4 untersuchten Kernarten wesentlichere Unterschiede voneinander auf, als man nach den üblichen Darstellungen erwarten sollte. So besitzen 2 der Kerntypen Arten von Inhaltskörpern, die den beiden anderen Typen augenscheinlich fehlen. Es sind dies zunächst die zahlreichen kleinen Körnchen, die manche Epithelkerne der Schwanzflosse von *Triton* regelmäßig erfüllen. Daß es sich tatsächlich um freie Körnchen handelt, geht, wie oben schon erwähnt wurde, aus der Brownschen Bewegung hervor, die diese Körperchen im Leben zeigen.

Wie wir gesehen haben, sind sie in fixierten Kernen ihrem Aussehen und ihrer achromatischen Färbung nach mit den von ALTMANN beschriebenen cyanophilen Körnern bzw. den Oxychromiolen HEIDENHAINS identisch. Es wäre also als ein Hauptresultat zu verzeichnen, daß solche »Oxychromiolen«, deren vitale Existenz vielfach bestritten ist und bisher als ganz unsicher zu bezeichnen war, im Leben sichtbar sein können.

In manchen Kernen der Schwanzflosse und in den Kernen der Kiemen wurden sie allerdings nicht gefunden, würden also darnach nicht ohne weiteres zu den wesentlichen Strukturteilen des Typus zu rechnen sein. Dies würde auch ihr ständiges Fehlen in anderen Typen begreiflich machen. Andererseits treten sie aber bei der Konservierung in allen Kernindividuen der Tritonlarve auf, auch in solchen, in denen sie im Leben unsichtbar waren; sie sind jedoch in einem Teil davon sämtlich kleiner wie in dem anderen, und wie in den lebenden. Es wäre deshalb zu erwägen, ob sie vielleicht wegen Kleinheit oder geringerer Lichtbrechungsfähigkeit nicht in allen im Leben gesehen werden können. Es erhebt sich aber zunächst die Frage, ob das ständige Auftreten der Körnchen in den konservierten Kernen nicht durch Fällungserscheinungen zu erklären wäre. Wir hätten dabei zwei streng geschiedene Möglichkeiten zu erörtern. Entweder wären alle, auch die vitalen Oxychromiolen als Produkte beginnender Fällung anzusehen. Sie müßten dann in allen Kernen, bei dauernder Lebendbeobachtung allmählich zum Vorschein kommen, bzw. sich vermehren, was aber, wie wir sahen, nicht der Fall ist. Oder man könnte die vitale Existenz von Chromiolen in einigen Kernen annehmen und das Bestehen der Körnelung in allen konservierten Kernen durch ein Hinzukommen von Ausfällungen aus der Grundsubstanz erklären. Da aber diese Ausfällungen auch bei denjenigen Kernen dazukommen würden, die vital Oxychromiolen enthalten, müßten unter den konservierten Kernen zwei Kategorien mehr oder minder scharf sich voneinander scheiden lassen: die einen mit 2 Arten von Körnchen, oder doch deutlich viel mehr Körnchen, als die anderen mit einer Art; d. h. solche mit Oxychromiolen + Ausfällung und solche mit Fällung allein. Dies ist aber ebenfalls nicht der Fall. Also ist es wohl richtiger, anzunehmen, daß die Oxychromiolen, oder deren Vorstufen überall vorkommen und nur in den einzelnen Kernen verschieden groß bzw. in verschiedenem Zustande vorhanden sind, so daß sie bei manchen Kernen erst durch die Konservierung sichtbar werden.

Anders scheint es mit dem Fehlen dieser Körnchen bei *Limnaea* zu stehen; denn hier stimmt das konservierte und lebende Bild immer überein. Der scharfe Gegensatz, der demnach zwischen dem konservierten Kernbild von *Triton* und *Limnaea* immer besteht, zwingt uns zu der Annahme,

daß sie bei *Limnaea* gänzlich fehlen. Es gibt also Kerntypen mit und solche ohne »Oxychromiolen«.

Eine dem Tritonkern ähnliche Körnelung haben wir dagegen in den Keimbläschen von *Unio* und *Anodonta* (Fig. 37a u. b Taf. XVI). Ob sie mit den Oxychromiolen aber wirklich identisch sind, bleibt ungewiß. Dafür würde sprechen, daß ihre Größe ungefähr dieselbe ist, und daß sie sich mit den üblichen Kernfarbstoffen nicht färben. Dagegen andererseits, daß sie sich den Reagentien gegenüber anders verhalten als die Oxychromiolen, worüber allerdings keine vollkommene Sicherheit zu erlangen war.

Lebende Kerne hat vor mir in letzter Zeit besonders Tellyesniczky (30) untersucht[1]), und zwar die des Darmepithels von *Triton*, die der Spermatogonien des Salamanders und die Riesenkerne der Spinndrüsenzellen von Raupen. Die Grundsubstanz aller dieser Kerne beschreibt er als wasserklar. In den Tritonepithelkernen und in den Kernen der Spermatogonien findet er entweder nur einige Nucleolen, oder »8—10 isolierte unregelmäßig geformte oft längliche Körperchen«, die er Caryosomen oder Nucleosomen nennt. Sie sind, wie hier gleich festgestellt sei, offenbar mit den von Flemming beschriebenen Netzknoten identisch. Da diese Bezeichnung Priorität besitzt, andererseits als Caryosomen sonst gewöhnlich mehr nucleolenartige basichromatisch färbbare Körperchen bezeichnet werden, so ist es wohl besser, an Flemmings Nomenklatur zunächst festzuhalten.

Von den Oxychromiolen findet er nichts. Betrachtet man aber seine Figuren, so zeigt sich ein auffälliger Unterschied zwischen solchen, deren Grundsubstanz er vollständig wasserklar zeichnet und anderen, bei denen sie eine Tönung erkennen läßt (s. seine Fig. 1, 2, 3 u. 11 auf Taf. XXIV); ob diese Tönung eine feine Körnelung darstellt, ist aus den Figuren nicht sicher zu entscheiden. Der Verfasser rechnet beide Arten zum gleichen Typus, und spricht sich über die Bedeutung der Tönung nirgends in seiner Beschreibung aus. Es ist aber danach gar nicht unwahrscheinlich, daß er Kerne mit und ohne Oxychromiolen vor sich gehabt hat. Bei den von ihm angewandten Vergrößerungen ist es aber in der Tat schwer möglich, Oxychromiolen als solche zu erkennen.

2) Auch hinsichtlich der Chromatinkörnchen unterscheiden sich die untersuchten Kerne erheblich. Der Limnaeakern zunächst enthält zahlreiche isolierte, durch stärkere Lichtbrechung scharf von der Umgebung

---

1) Beim Erscheinen der großen Arbeit von Runnström war vorliegende Niederschrift schon abgeschlossen (s. Anm. auf S. 285).

abgesetzte Körner, die nach Lage und Zahl den Chromogranula der konservierten und gefärbten Präparate entsprechen. Es kann keine Rede davon sein, daß es sich um die optisch stärker hervortretenden Durchschnitte eines chromatischen Kernnetzes handelt, wie nach FLEMMING vielfach angenommen wurde. Es läßt sich dies in Totalpräparaten schon durch die Mikrometerschraube feststellen und geht außerdem zwingend aus der BROWNschen Bewegung hervor, in der ich die Körperchen gefunden habe.

Auch im Keimbläschen von *Unio* und *Anodonta* sind derartige Körner vorhanden, aus deren Färbung in fixierten Präparaten und ihrem Verhalten den Lösungsmitteln gegenüber hervorgeht, daß es hier ebenfalls Chromatinkörner sind. *Corethra* zeigt, wie dies auch früher schon von CARNOY erwähnt wurde, nur eine Schleife von bzw. mit Chromatingehalt.

In Tritonkernen sind nun ebenfalls, wie oben schon angedeutet wurde, derartige Körner, aber nur wenige vorhanden. Nach FLEMMINGS Darstellung würde es sich, vor allem hier, nicht um Körner, sondern um optische Querschnitte eines chromatischen Kerngerüstes handeln — er findet sie auch lediglich im konservierten Präparat; die schon erwähnten Knoten dieses Gerüstes nur sind ihm lebend sichtbar. Das Gegenteil beweist hier ebenfalls wieder die BROWNsche Bewegung der Körner, in der sie sich im Leben befinden. — Neben ihnen habe ich auch übereinstimmend mit FLEMMING die »Netzknoten« in den lebenden Kernen gefunden. Sie sind durchschnittlich etwas kleiner als im konservierten Bild.

Es scheint, daß die Körner substantiell nicht dasselbe wie die Netzknoten sind, wenigstens verhalten sie sich, wie wir gesehen haben, bei den Lösungsversuchen anders. In den Netzknoten aber finden sich manchmal auch einige Körner, die nur einen Teil von deren Masse einnehmen und, nach ihrer Färbung beurteilt, mit den freien Chromatinkörnern identisch sind. Im Leben konnte ich sie nicht sehen. Ob sich die Chromatinkörner etwa nur durch Dichtigkeit von den Netzknoten unterscheiden, bliebe zu erwägen.

Es würde demnach aber die FLEMMINGsche Ansicht, daß wir es in diesen Kernen nur mit einer Art chromatischer Substanz zu tun haben, nicht ohne weiteres zutreffen. Zu bedenken ist dabei, worauf hier noch aufmerksam zu machen ist, daß in absterbenden Kernen noch eine weitere chromatische Substanz vorkommt (BRÜEL [4] hat derartige Gebilde »pseudochromatische« genannt), die sicher von den anderen chromatischen Substanzen verschieden ist. Von einer Zusammensetzung der ganzen Masse der Netzknoten aus kleinsten Körnchen von Oxychromiolengröße, wie sie HEIDENHAIN (16) beschreibt, habe ich nichts finden können. Meine

»Netzknotenkörner« haben damit nichts zu tun, wie aus ihrer Größenstufe hervorgeht.

3) Nicht ganz so sicher wie der Frage nach isolierten Körnern stehen wir der Gerüstfrage gegenüber. Bei *Limnaea* sahen wir zwar, daß sie kein chromatisches Gerüst besitzt. Aber ein vitales Liningerüst ohne kontinuierlichen chromatischen Belag, wie es ja oft angenommen wird und wie es sich in vielen Zeichnungen vom Konservierten vorfindet, wäre in Betracht zu ziehen. Wir haben S. 292 f. schon davon gesprochen, daß in manchen Kernen perlschnurartige Anordnungen vorkommen, wobei gewöhnlich Körnchen hinter Körnchen liegt, daß aber von einer Verbindung der Körnchen untereinander nichts zu sehen ist, was freilich nichts gegen die Existenz einer solchen beweist. Wir kamen aber dort zu dem Schlusse, daß kaum das ganze Gerüst, wie es manche konservierten Kerne zeigen, vital präformiert sein kann, sondern höchstens einzelne Hauptstränge, die vielleicht als Verdichtungen der Grundsubstanz anzusehen wären; die freie Beweglichkeit der großen Mehrzahl der Körnchen beweist es. Außerdem zeigen auch hierin die Kernindividuen starke Unterschiede. Wieweit dies mit dem physiologischen Zustand zusammenhängt, bleibe hier unerörtert.

In den Epithelkernen von *Triton* könnten die kurzen Ausläufer der Netzknoten, die zuweilen in den lebenden Kernen sichtbar sind, mit Flemming als Teile eines Gerüstes gedeutet werden. Dafür sprechen würde das konservierte Kernbild, wie es vor allem Flemming beschrieben hat. Ein Grund dagegen wäre einmal die Verschiedenartigkeit der Netzwerke in den einzelnen konservierten Kernen und das vollständige Fehlen eines Gerüstes nach Anwendung mancher Konservierungsflüssigkeiten, wie dies oben (S. 311) genauer ausgeführt wurde. Dann spricht auch hier die Brownsche Bewegung der kleineren Körnchen im Leben dagegen.

Bei *Unio* und *Anodonta* schließt die starke und allseitige Bewegung der Granula um vieles sicherer ein Gerüstwerk gänzlich aus. Außerdem kann man besonders hier die sehr große Verschiedenartigkeit im Aussehen der Gerüste des konservierten Keimbläschens, die in den Fig. 38 bis 40 (Taf. XVI vgl. auch Textfig. 12) deutlich hervortritt, gegen die Existenz eines solchen anführen. Beim Ausströmen des Kerninhaltes nach Anstechen der Keimbläschen kommt weder in der herausströmenden Flüssigkeit, noch in der zurückbleibenden Kernmembran etwas von Fadenwerken zum Vorschein. Somit dürfte das Vorhandensein eines Gerüstes bei diesen Keimbläschen mit Bestimmtheit zu leugnen sein, während bei den anderen Kernen die Frage immerhin noch mehr oder minder offen bleibt.

4) Über die Grundsubstanz der verschiedenen Kerne und darüber, ob eine Membran vorliegt, läßt sich nur bei *Unio* und *Anodonta* schon nach der Lebendbeobachtung allein etwas Sicheres aussagen. Wie gezeigt wurde, quillt der Inhalt nach dem Anstechen der Keimbläschen heraus und es bleibt eine deutliche Membran in Gestalt eines feinen Häutchens, das sich meist faltet, übrig. Wir haben es also hier mit einer festen Membran und einem flüssigen Inhalte zu tun. Daß ein flüssiger Inhalt vorliegt, ging auch schon aus der Brownschen Bewegung der Körnchen hervor.

Bei allen anderen Kerntypen wird ebenfalls durch das Auftreten von Brownscher Bewegung in manchen Kernindividuen Gewähr geleistet, daß bei ihnen eine flüssige Grundsubstanz mindestens zeitweise vorkommt. Daraus lassen sich umgekehrt Schlüsse auf die Beschaffenheit ihrer Oberflächenschicht ziehen. Da aber zu diesen Folgerungen auch die Ergebnisse der Lösungsversuche heranzuziehen sind, sollen sie gemeinsam mit diesen besprochen werden.

B. Weiteres über die Strukturteile der Kerne erfahren wir durch die Lösungsversuche und durch ihren Vergleich mit dem am Lebenden gewonnenen.

1) In erster Linie ist es die Oberflächenbeschaffenheit der Kerne, für die die Versuche zunächst Resultate ergeben; und umgekehrt ist ihre Kenntnis für die Beurteilung der Versuchswirkungen im Innern von Wichtigkeit. Das Keimbläschen von *Unio* hat, wie wir gesehen haben, eine Membran, d. h. ein festes nach außen und innen scharf begrenztes Häutchen, das nach Anstechen des Kernes isoliert werden kann. Auf die gleiche Art hat Brüel (4) ein solches beständiges Gebilde schon bei Dytiscuseiern konstatiert. Eine äußerst feine Membran, gleich einer Gelatinemembran, beschreibt Marcus (24) bei Asteriasei, die manchmal vor der Reifeteilung platzt und dann als zerknitterter hyaliner Schleier im Protoplasma liegt, um nach kurzer Zeit zu verschwinden. Bei unserem Objekt tritt nach dem Anstechen eine solche Lösung nicht ein, die Membran bleibt vielmehr im Plasma erhalten. Sogar gegen unsere Lösungsmittel ist sie, wie wir sehen werden, ziemlich widerstandsfähig.

Hinsichtlich des Eindringens der Reagentien sind Verschiedenheiten in ihrem Verhalten zu verzeichnen. Ein Teil der Keimbläschen läßt dieselben spezifischen Wirkungsarten der Reagentien im Kerninnern erkennen, wie sie auch bei den anderen Kernarten auftreten. Diese Art Keimbläschen quellen höchstens etwas, oder aber es erfolgt keine Veränderung des Volums. Nur in 10%igem Natrium-

carbonat und in konzentrierter Salzsäure schrumpfen solche sofort nach Zufließen der Lösung ein wenig.

Ein anderer Teil der Keimbläschen läßt keine spezifische Wirkung erkennen, sondern nur schwache atypische Veränderungen an den Strukturteilen, ähnlich wie sie destilliertes Wasser zuweilen liefert. Meist behalten diese Keimbläschen ihre ursprüngliche Größe bei; nur in destilliertem Wasser erfahren sie bald eine schwache Quellung, bald werden sie etwas kleiner.

Zweifellos hängen derartige Verschiedenheiten mit Verhältnissen in der Membran zusammen, und zwar würden dabei zwei Hauptmöglichkeiten in Betracht kommen. Einmal könnte die ganze Membran zeitweilig einem Verschwinden und Neuentstehen unterliegen; dem widerspricht, daß sie bei allen Anstichversuchen stets gefunden wurde. Es scheint somit eher ein Wechsel in ihrer Durchlässigkeit die Unterschiede hervorzurufen.

Die geschilderten Vorgänge wären dann so zu deuten, daß im ersten Falle die Reagentien eingedrungen sind und in manchen Kernen außer der Quellung der Inhaltskörper eine ebensolche der Grundsubstanz hervorgerufen haben. Denn die Quellung kann keinesfalls als eine osmotische gedeutet werden, da ja das Eindringen aller Reagentien, besonders grade auch von NaCl zeigt, daß die Membran nicht den Charakter einer für anorganische Salze der Zellflüssigkeit semipermeablen hat; überdies aber die Konzentration bei dem gewählten hohen Salzgehalt der Lösungen ja innen geringer sein würde, wie außen[1]). Das Eindringen seinerseits scheinen die erwähnten Lösungswirkungen an den Strukturteilen (Nucleolen!) zu beweisen.

Freilich wäre es auch denkbar, daß die Reagentien, ohne einzudringen, durch Änderungen physikalischer oder chemischer Natur nur an der Oberfläche das Anfangsglied einer Kette von Wirkungen schaffen, die sich von hier ins Innere fortsetzen. Aber auch dann wäre ein Wechsel der Oberflächenbeschaffenheit anzunehmen, da die Wirkung auf die Strukturteile so verschieden ist. Doch ist diese ganze Annahme der indirekten Wirkung sehr unwahrscheinlich, weil 10%ige Kochsalzlösung als hypertonisch bei Semipermeabilität der Membran eine Schrumpfung erzeugen müßte. Eine solche tritt aber nicht ein (auch bei *Limnaea* und *Triton* übrigens nicht).

Die sofortige oder allmähliche Schrumpfung bei einigen anderen

---

1) Über etwa von Eiweißkörpern u. dgl. im Kern herrührende osmotische Drucke siehe unten.

Reagentien und bei den Kernen mit nicht durchlässiger Membran (II. Fall) wäre, da auch destilliertes Wasser sie manchmal verursacht, als eine Kontraktion der durch die Reagentien gereizten Rindenschicht verbunden mit einer Wasserausstoßung zu deuten; wirklich wird dabei in manchen Fällen sicher das Innere fest, wie z. B. aus Keimbläschen in 5%igem Ammoniak, wenn dieses ohne spezifische Lösungswirkung bleibt, der Inhalt nach Zerstechen nicht mehr ausfließt. Es könnte daran gedacht werden, daß die Unterschiede mit dem Lebenszustand der Rindenschicht zusammenhängen; daß also diese an manchen Kernindividuen durch bestimmte Reagentien verschieden rasch getötet wird, aber auch oft spontan schon nach Isolation der Zelle abstirbt.

Was die anderen Kerne anlangt, so herrschen bei *Triton* einigermaßen klare Verhältnisse. Wie es schon Flemming bekannt war, finden sich hier Einbuchtungen und tiefe Falten in der Oberfläche der Kerne. Es beweist dies, wie Brüel schon ausgeführt hat, daß entweder die Grundsubstanz von fester Beschaffenheit ist, oder daß eine feste Membran vorliegt, die den Kernen diese Formen aufprägt (oder beides). Marcus, der die Grundsubstanz der Kerne als hauptsächlich flüssig annimmt, ohne dafür einen besonderen Beweis zu haben, hat schon geschlossen, daß gelappte und verästelte Kerne für das Vorhandensein einer Membran sprechen. Es ist mir nun aber gelungen, den Beweis für eine flüssige Beschaffenheit der Grundsubstanz bei *Triton* zu führen, durch die Beobachtung von Brownscher Bewegung an den Oxychromiolen und Chromogranula des lebenden Kernes. Da die Bewegung bekanntlich nur in einer Flüssigkeit stattfinden kann, müssen die Kerne eine Membran haben, wobei aber nicht gesagt sein soll, daß alle Kernindividuen sie ständig haben müssen.

Zu indirekten Schlüssen für die Limnaeakerne läßt sich vielleicht die Anfangsreaktion verwenden. Nach Zufließen von sämtlichen Reagentien trat, wie oben schon ausgeführt wurde, an ihnen eine Zusammenziehung auf, die wenige Sekunden dauerte und dann wieder zurückging. Bei *Triton* habe ich diese Zuckungen nur nach Zusatz von konzentrierter Salzsäure und bei den Keimbläschen überhaupt nicht beobachtet. Man könnte dabei zunächst vielleicht an osmotische Wirkungen denken, doch wird dies einmal dadurch ausgeschlossen, daß die Erscheinung auch in destilliertem Wasser zustande kommt, worin auf osmotischem Wege nur eine Quellung möglich wäre (s. weiter unten), und dann spricht auch die Geschwindigkeit, mit der der Vorgang erfolgt und zurückgeht, dagegen. Es ist wohl sicher eine »vitale« Kontraktion, über deren Entstehungsursache wir nichts Näheres angeben können. Wenn man nun die

Zuckungen der Tritonkerne in Salzsäure beiseite läßt, so kann man sagen, daß die Kerne mit (durch andere Gründe) sicher festgestellter Membran sie im allgemeinen nicht zeigen, wohl aber die anderen. Daraus würde sich der Schluß nahelegen, daß bei *Limnaea* keine Membran vorhanden ist; doch wäre es, nach dem gleich Folgenden, vielleicht richtiger zu sagen, daß die Oberflächenschicht der Speicheldrüsenkerne eine weichere Beschaffenheit hat, und in ihren Reaktionen dem Cytoplasma ähnlicher ist, als die erstarrtere von *Anodonta*, die ein festes Niederschlagshäutchen bildet.

Die Membran der Keimbläschen löst sich nun aber, wie sich aus nachträglich konservierten und gefärbten Kernbildern und zum Teil aus der Lebendbeobachtung ergibt, in konzentrierter Salzsäure nach ungefähr 1 Stunde, in 5%igem Ammoniak nach $^1/_2$ Stunde und in 10%igem Natriumcarbonat nach deren etwa 3. Die der Epithelkerne von *Triton* schwindet in Salzsäure nach etwa 1 Stunde (bei den Kernen der Kiemenblättchen tritt dies schon früher ein), in 5%igem Ammoniak nach $^1/_2$ Stunde (dabei kann der Kerninhalt herausquellen [s. oben S. 316]); eine Lösung in 10%igem Natriumcarbonat (nach ungefähr 6 Stunden) konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Es zeigen aber die Kerne von *Limnaea* nach Einwirkung derselben Reagentien auch ein zerflossenes Aussehen und zwar in Ammoniak nach 6 Stunden, in Natriumcarbonat ebenfalls nach ungefähr 6 Stunden und in konzentrierter Salzsäure nach 3 Stunden. Während am normalen konservierten Kern eine Membran zu sehen ist, fehlt sie in diesen Fällen an dem nach den Versuchen konservierten und gefärbten Präparat grade wie bei *Triton* und *Anodonta*. Daraus folgt aber doch indirekt die Existenz einer zum mindesten verdichteten Oberflächenschicht auch am lebenden Limnaeakern.

2) Die Grundsubstanz der Keimbläschen von *Unio* und *Anodonta* ist, wie gezeigt wurde, im Leben in flüssigem Zustand. Es würde dies auch mit ähnlichen Beobachtungen z. B. denen von Albrecht (1) am Seeigelei übereinstimmen.

Da in den meisten normalen lebenden Kernen von *Limnaea* und *Triton* an den Granula Brownsche Bewegung wahrzunehmen ist, liegt offenbar häufig eine flüssige Grundsubstanz vor. Für *Triton* ist dies schon bei Besprechung der Membranverhältnisse klargelegt worden. Bei *Limnaea* konnte verschieden starke Bewegung der Körnchen festgestellt werden (s. S. 294); es ist demnach der Grad der Viscosität verschieden.

Wie oben schon kurz angedeutet wurde, erzeugen die eindringenden Reagentien, aber auch Wasser, vielfach eine Quellung der Kerne. Viele Autoren, in jüngster Zeit z. B. Gelei (12) glauben an eine osmotische

Natur der Quellungen. Dieser Autor fand, daß die Kerne der Ovogonien, Ovocyten und Dotterzellen von *Dendrocoelum lact.* anschwellen, wenn die Körperflüssigkeit mit Wasser verdünnt war. Er nimmt deshalb an, daß die Quellungen durch hypertonische Lösungen im Kerninnern hervorgerufen werden. Dies ist sicher nicht richtig; denn wir sehen bei unseren Kernen, daß Quellungen auftreten können, obgleich sich außen starke hypertonische Lösungen befinden; auch wenn im Innern wirksame Substanzen frei würden, könnte es unmöglich in solcher Konzentration sein, daß der äußere Überdruck kompensiert würde. Dazu ist es nach Macallum (23) zu bezweifeln, daß Salze im Kern enthalten sind, auch in Bindung nicht. Andererseits sehen wir, wie eben besprochen, aus den Veränderungen im Kerninnern, daß bei unseren Objekten Salzlösungen eindringen, so daß Salze, wenn solche im Kern wären, auch voraussichtlich nach außen gelangen könnten. Es könnten also durch sie keine dauernden osmotischen Drucke hervorgerufen werden. Wir könnten nur allenfalls annehmen, daß andere Inhaltsstoffe, für die die Membran semipermeabel wäre, die Drucke ausübten. Dem widerspricht aber die Tatsache, daß kolloidale Substanzen, die wohl allein in Frage kämen, sehr geringe osmotische Drucke entwickeln, so gering, daß man früher ihnen überhaupt keine Wirksamkeit zuschrieb. Ganz unwahrscheinlich wird es aber, daß die Quellung auf osmotischen Wirkungen der Kolloide beruht, durch die Nichtquellung der Kerne in Ringerschem Gemisch, die ich konstatieren konnte. Es ist fast sicher, daß dieses eindringen kann, wie wir es denn u. a. für Kochsalz allein an einem Teil der Kerne selbst festgestellt haben. Würde Ringer aber doch nicht eindringen, wäre also die Membran dafür semipermeabel, so müßte der Kern, (wie die Zelle), da er nicht quillt noch schrumpft, entweder eine Flüssigkeit von derselben Zusammensetzung enthalten, was nach Macallum unwahrscheinlich ist; oder die kolloiden Substanzen allein müßten dem osmotischen Druck des »Ringer« das Gleichgewicht halten, was nicht möglich ist. Im ersten Falle aber, und ebenso im Falle des an sich viel wahrscheinlicheren Eindringens von Ringerlösung müßte der Druck der supponierten kolloidalen Substanzen, indem er sich dem des Ringerschen (oder ihm isotonischen) Gemisches im Innern hinzuaddiert, zu einer Quellung führen, was eben nicht der Fall ist.

Da also keinerlei Art von osmotischer Wirkung vorliegen kann[1]), würde, soweit ich sehe, in erster Linie eine Gelquellung in Betracht kommen. Nun glaubten wir aber zeigen zu können, daß die Grundsubstanz der

[1]) Wo eine solche bei geschädigten Limnaeakernen zustande kommt, erzeugt sie die S. 295 geschilderten Blasen.

Kerne im Naturzustand flüssig ist, für die der Keimbläschen ist es jedenfalls sicher. Man müßte also daran denken, daß quellbare Teilchen, die in der Grundsubstanz vorhanden sind, den Kern durch Wasseraufsaugung quellen lassen, oder daß die Reagentien die Flüssigkeit erst ganz oder teilweise gelatinieren und dann die Quellung hervorrufen.

Mit letzterem würde aber die Beobachtung an manchen Limnaeakernen, bei denen nach Zusatz von destilliertem Wasser nach mehreren Stunden eine Steigerung der Brownschen Bewegung der Körnchen auftritt (die Grundsubstanz wird also flüssiger), nicht übereinstimmen. Auch nach Beeinflussung mit Natriumcarbonat bleibt in manchen Speicheldrüsenkernen ein flüssiger Charakter der Grundsubstanz bestehen, da noch Brownsche Bewegung sichtbar war. Ebenso schwammen bei einem Teil der Tritonkerne nach Wasserwirkung die noch sichtbaren Körnchen und Nucleolenreste im Kerninnern frei umher, wenn die Zellen durch die Wimperbewegung der Kiemen z. B. in Rotation versetzt wurden. In einer Anzahl von Tritonkernen fanden sich nach Einwirkung von konzentrierter Salzsäure und 10%igem Natriumcarbonat die wenigen Körnchen, die eine Zeitlang noch zu sehen waren, ebenfalls in Brownscher Bewegung. Auch bleibt in den Keimbläschen bei spezifischer Wirkung der Reagentien sehr wahrscheinlich ein flüssiger Charakter des Ganzen bestehen. Gegen eine allgemeine Gelatinierung der Grundsubstanz nach Reagentienzusatz spricht ferner, daß, wie wir später sehen werden, Nucleolar- und Netzknotensubstanz, also kolloide Stoffe, in gelöstem Zustand durch die Grundsubstanz diffundieren kann; und endlich, daß Kerne, z. B. in Ammoniak, gleich nach der Quellung zerfließen können.

Manches läßt sich hingegen zugunsten von Entmischungen in der Grundsubstanz anführen. So die Bilder eines Teiles der Keimbläschen nach Beeinflussung mit destilliertem Wasser, 10%iger Kochsalzlösung, oder konzentrierter Salzsäure, wo in demselben Kernindividuum neben freien Körnchen, die sich in lebhafter Bewegung befinden, solche vorhanden sind, die sich nicht bewegen und zu Inseln und breiten Strängen zusammengelagert sind. In manchen Kernen von *Limnaea* treten im frischen Zustand Falten oder Waben auf, und zwar bei *Limnaea* nach 24stündiger Einwirkung von 10%igem Natriumcarbonat und schon nach kurzer Beeinflussung mit 10%iger Kochsalzlösung. In den Tritonkernen ebenfalls nach kurzer Einwirkung von Natriumcarbonat und Kochsalzlösung.

Es wird dabei offenbar eine quellbare Phase von einer flüssigen geschieden, in der Brownsche Bewegung weitergehen kann, ev. etwas lebhafter als im Normalen, wie z. B. bei den oben erwähnten Keimbläschen

nach Wasserbehandlung. Auch folgendes unterstützt diese Anschauung: Bei sehr vielen Kernen von *Corethra* und *Triton* fand bei Einwirkung von konzentrierter Salzsäure nach ungefähr 10—15 Minuten eine Schrumpfung statt, ebenso bei manchen Kernen von *Limnaea* nach ungefähr 6stündiger Beeinflussung mit 5%igem Ammoniak. Offenbar entschwindet die flüssige Phase nach außen; und zwar tritt dies anscheinend nach der Lösung der Membran ein, die, wie wir oben gesehen haben, nach diesen Zeiten nicht mehr vorhanden ist.

Für eine (so eingeschränkte) Beteiligung von Gelquellungserscheinungen an dem Phänomen würde aber nun sprechen, daß wenigstens bei den Kernen von *Limnaea* nach Zusatz von Kochsalzlösung keine Quellung auftrat, wie denn Gelatine z. B. von Neutralsalzen geschrumpft, nur von Säuren und Laugen geschwellt wird; und ferner, daß die Konservierungsschrumpfung nach vorherigem (weil quellungsminderndem) Auswaschen der Salzsäure geringer war (s. oben S. 300).

Aber eine solche Trennung von fester und flüssiger Phase kann doch nicht überall angenommen werden. In manchen Limnaeakernen z. B. hört nach 24stündiger Wasserwirkung die Körnchenbewegung auf (s. oben S. 298), dasselbe ist bei manchen Keimbläschen ebenfalls nach 24stündiger Wasserwirkung (s. oben S. 323) und bei den Körnchen der Keimbläschen, die nach Beeinflussung mit Salzsäure in Inseln oder Strängen zusammenliegen, der Fall (s. oben S. 325). Manche Kerne werden also durch die ganze Masse hin fest, sei es durch das Reagenz oder durch Absterben. Auch wo Entmischung zu sehen ist, z. B. wabenartige Bilder in Triton- und Limnaeakernen nach Einwirkung von NaCl- und Sodalösung, ist es nicht ohne weiteres sicher, ob nicht beide Phasen (oder nur die Wabenwände) sogleich festen Charakter gehabt haben.

Es wäre aber doch als ein schon ziemlich gesichertes vorläufiges Ergebnis dieser Erwägungen soviel anzusehen, daß Reagentienwirkung zu Entmischungen, und zwar zu Gemengen mit mehr oder minder flüssigen Phasen, führen kann, was die gefundenen Phänomene erklären würde; daß aber der normale Zustand des Kernsaftes bei unseren drei Kerntypen im ganzen flüssig, doch von variabler Viscosität genannt werden kann.

3) Die Chromatinkörnchen der Speicheldrüsenkerne von *Limnaea* quellen in destilliertem Wasser und verschwinden in einigen Kernen ganz, in anderen bleiben noch wenige schwach lichtbrechende Körnchen einige Stunden sichtbar. Dasselbe ist auch in den Kernen der Malpighischen Gefäße der Corethralarve mit den chromatischen Teilen des Kernfadens und mit den Chromogranula der Keimbläschen von *Unio* und *Anodonta* der Fall. In den Epithelkernen der Schwanzflosse und der

Kiemen von *Triton* quellen und verschwinden die Netzknoten und ebenso ein Teil der Chromatinkörner, in manchen Kernen quellen dagegen einige wenige (ungefähr 2—6) nicht, sondern bleiben noch ziemlich stark lichtbrechend mitunter bis zu 24 Stunden sichtbar.

In allen Fällen erscheinen aber die Chromatinkörnchen nach der Konservierung wieder. Bei *Limnaea* und *Triton* finden sich nach der Konservierung kleinere Körnchen, ob dies aber bedeutet, daß ein Teil ihrer Substanz wegdiffundiert ist, oder daß sie durch die Konservierungsflüssigkeit geschrumpft, oder aber ob es hinzukommende Konservierungsartefakte sind, ist eine Frage, die nicht entschieden werden kann.

Ein sicherer wichtiger Befund ist aber, daß sich die Netzknoten anders verhalten als die Chromatinkörner. In manchen Kernen waren sie schon nach 1stündiger Einwirkung von Wasser weggelöst, in anderen fanden sich (nach der Konservierung) nur noch Reste davon, die zuweilen nach 24 Stunden noch zu sehen waren. Ihre Substanz kann demnach im Kerninnern diffundieren, und da sie nach der üblichen Annahme zum Teil mindestens aus Nucleoproteiden zusammengesetzt sind, wäre dann für diese eine Diffusion im Kernsaft festgestellt. Ob sie aber durch die Membran gehen, ist eine andere Frage; ihre Substanz könnte in den nach der Konservierung im Kerninnern hinzugekommenen Körnchen vorliegen. Bei den in alter Größe wiedererschienenen Chromogranula ist anzunehmen, wie dies auch Zacharias (39) und Carnoy (5) tun, daß sie nur gequollen waren, da sie sich bei völliger Lösung von ihrem Ort wohl hätten entfernen können, wie wir dies ja für die Netzknotensubstanz gesehen haben, und da eine Ausfällung jedesmal in der alten Größe unter den verschiedensten Bedingungen nicht sehr wahrscheinlich ist. Die Oxychromiolen des Tritonkernes wurden von destilliertem Wasser nicht angegriffen.

Konzentrierte Salzsäure läßt das Chromatin aller 4 Kernarten quellen und verschwinden, und zwar geschieht dies bei *Limnaea* und *Corethra* sofort, während bei *Triton* und *Unio* zuweilen noch Körnchen sichtbar bleiben, die aber nach längerer Zeit ebenfalls verschwunden waren. Die Oxychromiolen werden ungefähr 5 Minuten nach Zusatz der Säure unsichtbar. Nach der Konservierung der verschieden lang behandelten Kerne wurde festgestellt, daß sich die Chromatinkörnchen der Speicheldrüsenkerne von *Limnaea* vermehrt hatten, und zwar sind sie dann verschieden groß. Daraus folgere ich, daß sie sich zum Teil gelöst haben und in die Grundsubstanz diffundiert sind. Da nach 3stündiger Säurewirkung immer noch Größenunterschiede an den Chromatinkörnchen vorkommen, ist es möglich, daß nicht alle vollständig gelöst werden. In den Gefäß-

kernen der Corethralarve zeigen sich nach $^1/_2$stündiger Beeinflussung Chromatinkörnchen, die kleiner sind als die normalen Fadenabschnitte. Ob eine Lösung und Diffusion eingetreten war, konnte hier wegen dem Herausquellen des Gefäßinhaltes nach $^1/_2$ Stunde nicht sicher festgestellt werden. Die Netzknoten der Epithelkerne gehen unter Quellung in Lösung über bereits nach ungefähr $^1/_4$stündiger Beeinflussung mit Salzsäure, die der Epithelkerne der Kiemen schon nach 10 Minuten; denn bei der Konservierung nach den genannten Zeiten ist von ihnen nichts mehr festzustellen. Die oben beschriebenen anscheinend widerstandsfähigeren wenigen Chromatinkörnchen treten bei der Konservierung nach $^1/_4$stündiger Einwirkung noch auf, bei späteren Ausfällungen sind sie dagegen ebenso wie die Netzknoten vollständig aus dem Kerne verschwunden. Die Kernbilder zeigen dabei, daß eine Membran nicht mehr vorhanden ist (s. Fig. 30 Taf. XV). Es ist dies also der beste Beweis, daß die Chromogranula durch die Grundsubstanz in Salzsäure diffundieren. Soweit festgestellt wurde, gehen auch die Oxychromiolen des Tritonkernes unter Quellung in Lösung über und diffundieren nach außen. Die Chromatinkörnchen der Keimbläschen zeigen nach 3stündiger Beeinflussung Größenunterschiede. Eine Diffusion durch die Grundsubstanz findet auch hier statt.

In 5%igem Ammoniak quellen die Chromatinkörnchen und verschwinden fürs Auge, nach kürzerer oder längerer Zeit in allen Kernarten, ebenso die Netzknoten und Oxychromiolen der Epithelkerne. Erst nach 24stündiger Einwirkung scheinen sich die Chromatinkörnchen von *Limnaea* aber zum Teil gelöst zu haben, eine Diffusion nach außen hat bis zu dieser Zeit nicht stattgefunden. Bei *Triton* erscheinen nach $^1/_4$ Stunde bei der Konservierung Oxychromiolen, Netzknotenreste und Körnchen wieder, die gegenüber den normalen keine Änderung aufweisen. Später treten nur noch Körnchen beim Konservieren auf, die Netzknoten haben sich demnach zum größten Teil oder vollständig gelöst. Dasselbe kann bei manchen Chromatinkörnchen der Fall gewesen sein, da sie kleiner als im normalen sind. Auch bei den Chromogranula des Keimbläschens treten nach 1—2stündiger Beeinflussung verstärkte Größenunterschiede auf. Die Körnchen verlassen, wie aus den konservierten Kernbildern hervorgeht, nach Lösung der Membran mit dem übrigen Kerninhalt allmählich das Keimbläschen.

10%iges Natriumcarbonat läßt die Chromatinkörnchen der drei Kernarten ebenfalls quellen und ebenso die Netzknoten der Tritonkerne, doch nicht in dem Maße wie 5%iger Ammoniak, da nicht alle Körnchen verschwinden, sondern häufig noch mehrere schwach lichtbrechend sichtbar sind. Wieweit es sich bei den nach der Konservierung erscheinenden

kleineren chromatischen Körnchen um Reste oder Fällungen nach der Lösung handelt, ließ sich nicht ausmachen. Nach 1stündiger Beeinflussung der Epithelkerne mit Natriumcarbonat sind die Netzknoten nach der Konservierung nicht mehr von den ausgefällten Chromogranula zu unterscheiden, sind also teilweise oder vollständig gelöst und ev. wieder in Granulaform ausgefällt worden. Die Oxychromiolen quellen nur schwach und werden nicht angegriffen.

In 10%iger Kochsalzlösung quillt das Chromatin aller 4 Kernarten und verschwindet bis auf einige Körnchen für das Auge vollständig. Während nun die Netzknoten schon nach 1stündiger Einwirkung nicht mehr von den Körnchen zu unterscheiden sind, also auch hier teilweise oder ganz gelöst wurden, ist eine wirkliche Lösung der Chromatinkörnchen, da sie nach Konservierung keine Veränderungen zeigen, wohl nicht eingetreten; oder die Diffusion wäre gänzlich unterbunden: was ebenso Substanzunterschiede anzeigen würde. Oxychromiolen wurden durch die Lösung nicht verändert.

Überblicken wir das eben Gesagte noch einmal, so tritt uns ein auffallend verschiedenes Verhalten der Netzknoten, Oxychromiolen und Chromogranula entgegen. Nach den Resultaten der durch Miescher (25) inaugurierten Untersuchungsreihen, nach denen die Nucleoproteide einen sehr beträchtlichen Prozentgehalt der Kerne ausmachen, wäre zu vermuten, daß die geformten Substanzen in ihrer Löslichkeit gleich wären, wie dies gewöhnlich auch von den Autoren geschildert wird. Wie wir oben gesehen haben, werden die Netzknoten durch die angewandten Reagentien zum Teil oder vollständig gelöst, während die Chromatinkörnchen weniger und die Oxychromiolen nicht (außer von Salzsäure) angegriffen werden.

Andererseits habe ich konstatiert, daß sich derselbe Strukturteil in ein und derselben Kernart verschieden verhalten kann. Auch für die gleichbenannten Dinge verschiedener Kerne finden sich Unterschiede (Chromogranula). Mit den Angaben der Autoren (Schwarz, 29; Zacharias, 39; Carnoy, 5) stimmen die Ergebnisse der Versuche also auch hierin nicht völlig überein, — wobei aber zu bedenken ist, daß jene konservierte Kerne benutzten. Es ist außerdem sehr wohl möglich, daß noch weitergehende Unterschiede zwischen verschiedenen Objekten existieren, als sie meine Untersuchungen schon gezeigt haben. Es ließe sich zwar auch daran denken, daß die verschiedenen Lösungsmittel nur in ungleicher Konzentration in die einzelnen Korntypen eindringen, also nur ein Durchlässigkeitsunterschied vorläge; doch haben sich beim langdauernden Versuch die Unterschiede bei meinen

Objekten nicht verwischt. Und andererseits treten sie auch in ein und demselben Kern wie gesagt auf, nicht nur zwischen Netzknoten und Körnern, sondern auch zwischen einzelnen Chromatinkörnern. Es ist jedoch sehr wohl denkbar, daß diese Unterschiede nur physikalischer Natur sind. Im übrigen stehen wir noch viel zu sehr am Anfang dieser Untersuchungsmethoden, als daß wir mehr darüber aussagen könnten.

4) Die Nucleolen der Speicheldrüsenkerne von *Limnaea*, der Gefäßkerne von *Corethra* und der Epithelkerne von *Triton* quellen in destilliertem Wasser zunächst wenig, meist bleiben sie noch schwach lichtbrechend sichtbar. Der große blasse Teil des Hauptnucleolus und die Nebennucleolen des Keimbläschens von *Unio* und *Anodonta* quellen ziemlich stark, während der kleine glänzende Teil des Hauptnucleolus etwas schrumpft. Lösung eines Teils tritt dann allmählich, besonders nach längerer Beeinflussung, bei den Nucleolen von *Limnaea*, *Corethra*, *Triton* und dem achromatischen Teile sowie den Nebennucleolen des Keimbläschens ein. Der chromatische Teil des Hauptnucleolus zeigt außer der oben beschriebenen Schrumpfung keine weitere Änderung. Bei den Epithelkernen von *Triton* trat ein deutlicher Unterschied zwischen den einzelnen Kernindividuen hinsichtlich der Veränderung der Nucleolen zutage. In einigen waren sie kaum oder garnicht angegriffen, selbst nach 24 Stunden nicht, in anderen dagegen zeigten sie mehr oder weniger starke Änderungen. Entweder waren sie dann ganz herausgelöst, so daß ein Loch in der Grundsubstanz sichtbar war, oder es war noch ein Restbrocken übrig. Die gelöste Nucleolarsubstanz kann demnach in der nicht von Reagentien geänderten Grundsubstanz diffundieren.

Konzentrierte Salzsäure läßt die Nucleolen von *Limnaea* und *Corethra* sofort, und beide Nucleolenarten von *Unio* und *Anodonta* bald nach Zusatz quellen und ganz oder teilweise für das Auge verschwinden. Die Nucleolen von *Triton* quellen ebenfalls und verschwinden völlig oder es bleiben anscheinend unquellbare Reste sichtbar, die mitunter nach 1stündiger Einwirkung der Säure noch vorhanden sind. Die Nucleolen von *Limnaea* lösen sich dabei allmählich in zweierlei Weise, einmal von innen heraus, so daß noch eine Begrenzung (Schale) bleibt, das andere Mal von außen. Ob im letzten Falle eine vollständige Lösung eintritt, bleibt ungewiß, da das Restkorn sich nicht mit Sicherheit von den Chromatinkörnern unterscheiden läßt. Ähnlich verhält es sich auch mit den Nucleolen bei *Triton*. Die Nucleolen der Gefäßkerne von *Corethra* sind bereits nach ungefähr $^1/_2$stündiger Einwirkung durch Konservierung nicht mehr nachzuweisen; die der Keimbläschen zeigen sich im konservierten Bild erst später verändert, zuerst der achromatische und die Neben-

nucleolen und dann auch der chromatische. Beide Arten werden allmählich vollständig weggelöst.

In 5%igem Ammoniak quellen die Nucleolen von *Limnaea* und *Triton* und beide Arten des Keimbläschens. Bei *Limnaea* ist schließlich meist noch ein unquellbarer Rest sichtbar oder es ist nur der leere Raum (ev. auch die Schale) noch erkennbar, in dem der Nucleolus gelegen hatte. Er hat sich also vollständig oder zum größten Teil gelöst. Auch die Nucleolen von *Triton* und die des Keimbläschens von *Unio* lösen sich allmählich. Der chromatische Teil des Hauptnucleolus scheint dabei von außen her abgebaut zu werden, während sich der achromatische von innen heraus löst.

10%iges Natriumcarbonat läßt die Nucleolen der 3 Kernarten ebenfalls quellen. Die von *Limnaea* verschwinden vollständig für das Auge, dagegen sind die der beiden anderen Kernarten meist noch schwach lichtbrechend zu sehen. Völlige Lösung scheint bei den Nucleolen der Somazellen und bei dem chromatischen Teil des Hauptnucleolus vom Keimbläschen nicht eingetreten zu sein. Von letzterem ist nach 24stündiger Einwirkung noch eine Schale mit wenig Gerinnsel darin vorhanden und von den ersteren anscheinend noch Restkörner. Der achromatische Teil des Hauptnucleolus und die Nebennucleolen waren nach 24 Stunden nicht mehr festzustellen.

Auch in 10%iger Kochsalzlösung quellen die Nucleolen mehr oder weniger und verschwinden oder sind eben noch wahrzunehmen. Bei *Limnaea*, *Corethra* und *Triton* ist nach 24stündiger Beeinflussung entweder noch ein Restkorn oder eine Schale mit Gerinnsel im Innern vorhanden. Von dem chromatischen Nucleolus des Keimbläschens bleiben noch einige Brocken oder Körner, von dem achromatischen und den Nebennucleolen eine Schale zurück.

Eine Zusammenfassung des eben Gesagten ergibt, daß sich der frische Nucleolus allgemein anders verhält, als gewöhnlich angegeben wird. Nach den Feststellungen älterer Autoren (Zacharias, Carnoy) unterscheiden sich die Nucleolen der Gewebszellen von dem Chromatin durch ihre Widerstandsfähigkeit gegen verdünnte Alkalien, starke Kochsalzlösung, konzentrierte Salzsäure und Wasser. Ich finde dagegen, daß bei genügend langer Wirkung der Reagentien der Nucleolus fast überall gelöst wird (s. oben). — Andererseits treten auch hier wieder Differenzen auf zwischen den Nucleolen verschiedener Kernindividuen desselben Tieres.

Wenn sich nun der echte Nucleolus vielfach mit Lösungsmitteln der Nucleoproteide löst, so scheint dies die Ansicht derjenigen Autoren zu

unterstützen, die ihm Chromatincharakter zuschreiben. In Wahrheit ist es ja auch möglich, daß der Nucleolus ähnliche Substanzen enthält; aber es hat sich andererseits gezeigt, daß gerade der sog. chromatische Nucleolus des Anodontaeies sich weniger leicht in Chromatinlösungsmitteln löst wie der andere. Und weiter findet man, daß die Nucleolarsubstanz in manchen Lösungsmitteln viel rascher ihren Platz verläßt und sich im Kerne ausbreitet, als wie es gerade für das typische Chromatin der Chromogranula gilt, ganz abgesehen davon, daß anscheinend für einen Teil dieser Körner in manchen Fällen überhaupt keine Ausbreitungsmöglichkeit gegeben ist. Da also die Nucleolarsubstanz in ihrer Diffusibilität von dem Chromatin durchschnittlich entschieden abweicht, und da andererseits gerade der achromatische Kernkörper in Quellung und Lösung dem Chromatin ähnlicher ist wie der chromatische, so ist mit der in dieser Arbeit gegebenen Abschwächung der Lösungsunterschiede zwischen Chromatin und Nucleolarsubstanz nichts festgestellt, was im Sinne eines Chromatincharakters der letzteren zu interpretieren wäre. Erst bei annähernd vollkommener Gleichheit in allen Kategorien von Lösungsmitteln ließe sich ein solcher Schluß rechtfertigen; vorläufig bleibt der Kreis von möglichen Substanzen ein ziemlich weiter. Sicher aber würde es nach meinen Versuchen unrichtig sein, chromatischen Nucleolen eine größere Chromatinähnlichkeit zuzuschreiben als achromatischen. Ist es doch auch bekannt, daß die basichromatische Färbung chemisch recht verschiedenartige Substanzen ergreifen kann.

Zusammenfassung.

Nur die wichtigsten, und zugleich gesichertsten Ergebnisse seien hier wiederholt:

1. Der lebende Speicheldrüsenkern von *Limnaea st.* enthält (außer Nucleolen) nur eine größere Anzahl unter sich gleicher und isolierter Körner in sehr wechselnder Anordnung. Vergleich mit dem konservierten und gefärbten Präparat kennzeichnet sie als Chromatinkörner (Chromogranula) (s. Fig. 2 Taf. XV, Textfig. 2).

2. Sie befinden sich in den meisten Kernen sämtlich oder größtenteils in Brownscher Bewegung, können also nicht einem Kerngerüst eingefügt sein. Reihenbildung in einem Teil der Kerne, stets nur einige der Körner betreffend und mit Verlust der Beweglichkeit verbunden, ist wahrscheinlich als Entmischungsbeginn zu deuten. Sicher sind die auch hier nach manchen Konservierungen erscheinenden geschlossenen Gerüste Artefakt.

3. Die lebendbeobachteten Epithelkerne der Tritonlarve zeigen außer den »Netzknoten« des chromatischen Gerüsts noch Chromatinkörner in geringer Anzahl, freiliegend, wie aus Brownscher Bewegung zu folgern — also nicht optische Querschnitte von Gerüstbalken (Flemming u. a.).

4. Ein Teil dieser Kerne enthält außerdem eine große Menge wesentlich kleinerer und schwächer lichtbrechender Körnchen; Konservierung macht es wahrscheinlich, daß sie überall vorhanden, nur wegen Größen- und Brechungsverhältnissen nicht stets am Lebenden zu sehen sind. Nach färberischen Eigenschaften entsprechen sie Altmanns cyanophilen Körnern bzw. Heidenhains Oxychromiolen. (Vgl. Fig. 22 Taf. XV, Textfig. 7.)

5. Im lebenden Keimbläschen von *Anodonta* und *Unio* findet man neben den Nucleolen gleichfalls freischwimmende Körner von verschiedenen Größenstufen; die größeren erweisen sich konserviert als deutlich basichromatisch.

6. Die Membran des lebenden Keimbläschens kann nach dessen Anstechen isoliert werden und ist ein resistentes (im Cytoplasma und Wasser) unlösliches Häutchen; die Grundsubstanz des Kerns (Kernsaft) stellt eine ziemlich leichtbewegliche Flüssigkeit dar.

7. Brownsche Bewegung der kleineren Körner in vielen *Triton*- und *Limnaea*kernen beweist auch für diese eine (mindestens zeitweise bestehende) Flüssigkeit der Grundsubstanz. Dies vorausgesetzt, lassen die dauernden und tiefen Oberflächeneinbuchtungen vieler *Triton*kerne den sicheren Schluß auf eine feste Membran zu. Über die weniger starre Oberflächenschicht bei *Limnaea* s. S. 338.

8. Diese Membranen sind für bestimmte Salzlösungen vielfach durchlässig; z. B. wird das Eindringen von Kochsalz und Soda in den Tritonkern durch »plasmolytische« Zusammendrängung des Kerninhalts (Grundsubstanz) erwiesen (Fig. 33 Taf. XVI, Textfig. 11a). Doch sind die Kerne hierin individuell verschieden; und ebenso generisch, wie denn z. B. dasselbe NaCl in Limnaeakerne wahrscheinlich nicht eindringt.

9. Längere Einwirkung von Ammoniak (oder auch Soda) löst die Kernmembranen; die Grundsubstanz (mit Chromatininhalt) mischt sich aber dann nicht stets mit dem Cytoplasma (Fig. 13, 30 Taf. XV, 48 Taf. XVI, Textfig. 4, 13b). Sie wird nämlich durch Chromatinlösungsmittel nicht stets dünnflüssiger, sondern vielfach hierin, auch in destilliertem Wasser, ganz oder zum Teil gelatiniert.

10. Die in manchen Reagentien, auch destilliertem Wasser, gewöhnliche Kernquellung beruht sicher nicht auf Osmose (s. S. 339), sondern wahrscheinlich auf Gelquellung, in Verbindung mit durch die Reagentien (bzw. Salzentziehung) bewirkte Entmischung einer festeren Phase (in

Ringerlösung, oder beim Limnaeakern in dem nicht eindringenden NaCl, bleibt beides aus!).

11. Chromatische Netzknoten, Chromatinkörner und »Oxychromiolen« verhalten sich den gewöhnlichen Lösungsmitteln für Nucleoproteide gegenüber verschieden. Die ersten werden von den benutzten leicht, die Oxychromiolen, außer von Salzsäure, gar nicht angegriffen. Die Chromatinkörner, in der Mitte stehend, zeigen unter sich häufig starke Verschiedenheiten im selben Kern, und ebenso zwischen den untersuchten Kernarten (doch kann das letzte — nur dieses — auf Diffusionsunterschieden beruhen).

12. Zirkulationsstörungen (O_2-Mangel?) lassen in vielen Tritonepithelkernen basichromatische Substanzen erscheinen, die allmählich sich weiter ausbreiten. Entstehungsart und Lichtbrechung im Leben charakterisieren sie als »pseudochromatisch«. Mit Albrechts Myelin sind sie aber auch nicht identisch.

13. Die »chromatischen« Nucleolen des *Anodonta*eies stehen in Löslichkeitsverhältnissen von dem eigentlichen Chromatin weiter ab wie die »echten« Kernkörper.

14. Im Gegensatz zu den älteren Erfahrungen am Konservierten lösen sich die echten Nucleolen bei längerer Einwirkung von konzentrierter Salzsäure, starker Kochsalz- und Sodalösung sowie Ammoniak auf den lebensfrischen Kern ganz oder zum größeren Teil auf. Abgesehen von der hierbei nirgends vorhandenen Übereinstimmung im einzelnen unterscheidet sie aber generell die viel größere Diffusionsfähigkeit ihrer gelösten Substanz im Kernsaft nach wie vor von den Chromatinkörpern.

Literaturverzeichnis.

1) Albrecht, Physik. Fragen der Zellpathologie II, der physik. Bau des Zellkerns. Ergebn. Path. Jg. 1, 1900.
2) Albrecht, Experimentelle Untersuchungen über die Kernmembran. Zieglers Beitr. zur pathol. Anat. 1903.
3) Boveri, Th., Ergebnisse über die Konstitution der chromat. Substanz des Zellkerns. Jena 1904.
4) Brüel, L., Zelle und Zellteilung (zoologisch). Handwörterbuch der Naturwissenschaften, Bd. 10, 1914.
5) Carnoy, J. B. et Lebrun, H., La vesicule germanitive chez les Batraciens, I. La Cellule, Tome 12, 1897.
6) Cohnheim, O., Chemie der Eiweißkörper. 3. Aufl. Braunschweig 1911.
7) Flemming, W., Beobachtungen über die Beschaffenheit des Zellkerns. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 13, 1876.

8) Flemming, W., Zur Kenntnis des Zellkerns. Centralbl. f. die med. Wissensch., Nr. 20, 1877.
9) Flemming, W., Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Lebenserscheinungen. Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. 16, 1879.
10) Flemming, W., Zellsubstanz, Kern- und Zellteilung. Leipzig 1882.
11) Flemming, W., Über Unsichtbarkeit lebender Kernstrukturen. Anat. Anz., Bd. 7, 1892.
12) Gelei, J., Über die Ovogenese von Dendrococlum lacteum. Arch. f. Zellforsch., Bd. 11, 1913.
13) Haecker, V., Allgemeine Vererbungslehre. 2. Aufl. Braunschweig 1912.
14) Hertwig, O., Beiträge zur Kenntnis der Bildung, Befruchtung und Teilung des tierischen Eies. Morpholog. Jahrb., Bd. 4, 1878.
15) Kanitz, A., Biochemie der Zelle. Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere. 1909.
16) Kossel, A., Über die chemische Zusammensetzung der Zelle. Du Bois-Reymonds Arch. 1891.
17) List, Th., Beiträge zur Chemie der Zelle und Gewebe. Mitt. d. zool. Station zu Neapel, Bd. 12, 1896.
18) Macallum, A. E., Mikrochemie in der biologischen Forschung. Ref. Ergebn. Physiol., Bd. 7, 1908.
19) Marcus, Kernmembran. Sitzungsber. d. Gesellsch. für Morphol. u. Physiol., Bd. 23. München 1907.
20) Miescher, Fr., Histochemische u. physiologische Arbeiten. Leipzig, F. C. M. Vogel, 1897.
21) Montgomery, Th. H., Comparative cytological studies with especial regard to the morphology of the Nucleolus. Journ. of morphology, Vol. 15, 1898.
22) Obst, P., Untersuchungen über das Verhalten der Nukleolen bei der Eibildung einiger Mollusken und Arachnoiden. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 66, 1899.
23) Schwarz, Fr., Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. Beitr. z. Biol. der Pflanzen, Bd. 5. Breslau, 1887.
24) v. Tellyesniczky, K., Ruhekern u. Mitose. Untersuchungen über die Beschaffenheit des Ruhek. u. über den Ursprung u. das Schicksal des Kernfadens, mit besonderer Berücksichtigung der Wirkung der Fixierungsflüssigkeiten. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 66, 1905.
25) Warburg, Über die Wirksamkeit der Strukturen auf die chemischen Vorgänge in Zellen. Jena 1913.
26) Zacharias, E., Über den Zellkern. Bot. Zeitung, 40. Jahrg., 1882.
27) Zacharias, E., Über Eiweiß, Nuklein und Plastin. Ibid. 1883.
28) Zacharias, E., Über den Nukleolus. Ibid. 1885.
29) Zacharias, E., Beiträge zur Kenntnis des Zellkernes und der Sexualzellen. Bot. Zeitung, 45. Jahrg., 1887.
30) Zacharias, E., Über einige mikrochemische Untersuchungsmethoden. Ber. d. Deutschen bot. Gesellsch., Bd. 14, 1896.
31) Zacharias, E., Über Nachweis u. Vorkommen von Nuklein. Ibid., Bd. 16, 1898.
32) Zacharias, E., Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern. Progressus rei botanicae, Bd. 3, 1909.

Tafelerklärung.

Sämtliche Zeichnungen sind mit Zeichenapparat und REICHERT-Apochromat 1,5 mm und den Kompens.-Ocul. 4 oder 6 oder 12 angefertigt. Abkürzungen: S. = Zeichnung nach Schnittpräparat, T. = Zeichnung nach Totalpräparat, Vergr. = Vergrößerung.

Tafel XV.

Fig. 1. Kern aus der Speicheldrüse von *Limnaea*, Vergr. 660.
a) gez. in den ersten 5 Minuten in RINGERschem Gemisch liegend,
b) derselbe Kern nach 24 Stunden (Deckglas umrandet).

Fig. 2 a—g. Normale Speicheldrüsenkerne von *Limn.* überlebend in RINGERschem Gemisch (nach sofort hergestellten Skizzen). 2 g) Kern eines jungen Tieres. Vergr. 660.

Fig. 3. Zwei Ebenen eines normalen unter Deckglas konservierten (ZENKER) ungefärbten Speicheldrüsenkernes von *Limn.* Vergr. 660.

Fig. 4. Normale, konservierte (ZENK.) und gefärbte (Häm. Del.) Speicheldrüsenkerne, a) Vergr. 2000; b) Vergr. 990.

Fig. 5. Zwei Speicheldrüsenkerne mit kuppelart. Vorwölbungen (»Blasen«). Vergr. 660.

Fig. 6. Speicheldrüsenkern v. *L.* nach einstündiger Beeinflussung mit destill. Wasser; konserv. (ZENKER) u. gefärbt (Häm. Del.). S. Vergr. 990.

Fig. 7. Speicheldrüsenkern v. *L.* nach halbstündiger Behandlung mit konz. Salzsäure, konserv. (ZENK.) u. gefärbt (Häm. Del.). S. Vergr. 990.

Fig. 8. Speicheldrüsenkern v. *L.*
a) nach 24stündiger Behandlung mit 10%iger Kochsalzlösung,
b) derselbe Kern nach Konservierung mit 3%iger Essigsäure. T. Vergr. 660.

Fig. 9. Speicheldrüsenkern v. *L.* nach 3stündiger Behandlung mit 10%iger Kochsalzlösung, konserv. (ZENK.) u. gefärbt (Häm. Del.). S. Vergr. 2000.

Fig. 10. Speicheldrüsenkern v. *L.* nach 18stündiger Beeinflussung mit 1,5%iger Kochsalzlösung, frisch. (Körnchen etwas gequollen; näheres s. Text). T. Vergr. 660.

Fig. 11. Speicheldrüsenkern v. *L.* nach 1stündiger Beeinflussung mit 5%igem Ammoniak, konserv. (Alk. 96%) u. gefärbt (Häm. Del.). S. Vergr. 990.

Fig. 12. Speicheldrüsenkern v. *L.* nach 48stündiger Behandlung mit 5%igem Ammoniak, konserv. (ZENK.) u. gefärbt (Häm. Del.). S. Vergr. 660 (im Drüsenfollikel liegend).

Fig. 13. Speicheldrüsenkern v. *L.* nach 1stündiger Beeinflussung mit 10%igem Natriumcarbonat, konserv. (Alk. 96%) u. gefärbt (Häm. Del). S. Vergr. 990.

Fig. 14. Normaler, konservierter (ZENK.) und gefärbter (Häm. Del.) Kern aus den Malpighischen Gefäßen der Corethralarve. S. Vergr. 660.

Fig. 15. Normaler, konserv. (ZENK. warm) u. gefärbter (Häm. Del. u. Safranin) Kern aus den Malpigh. Gef. der Larve. S. Vergr. 990.

Fig. 16. Normaler, konserv. (ZENK.) u. gefärbter (Häm. Del.) Kern aus den Malpigh. Gef. d. L. (ein Teil der Zelle mitgezeichnet). T. Vergr. 660.

Fig. 17. Normaler, konserv. (ZENK.) u. gefärbter (FLEMMINGsche Färbung) Kern aus den Malpigh. Gef. d. C. T. Vergr. 660.

Fig. 18. Normaler, konserv. (FLEMMING stark) u. gefärbter (FLEMMINGsche Färbung) Kern aus d. M. G. d. C. S. Vergr. 660.

Fig. 19. Kern aus den Malpigh. Gef. nach $^3/_4$stündiger Beeinflussung mit 10%iger Kochsalzlösung, konserv. (ZENK.) u. gefärbt (Häm. Del.). T. Vergr. 660.

Fig. 20. Kern aus den Malpigh. Gef. nach 1stündiger Einwirkung von 10%iger Kochsalzlösung, konserv. (Zenk.) u. gefärbt (Safranin). S. Vergr. 660.

Fig. 21. Kern aus den Malpigh. Gef. nach $^1/_2$stündiger Beeinflussung mit konz. Salzsäure, kons. (Zenk.) u. gef. (Safranin). T. Vergr. 660.

Fig. 22. Normale Epithelkerne der Tritonlarve, a), b), c) und d) aus der Schwanzflosse, nach dem Leben; e) und f) aus den Kiemenblättchen, überlebend in Ringerschem Gemisch (nach sofort hergestellten Skizzen), a) mehrere Bildebenen eingetragen, b) und d) nur eine. T. Vergr. 990.

Fig. 23. a—h) Normale, kons. u. gefärbte Epithelkerne der Triton- und Salamanderlarve,
a) nach einem Totalpräparat der Schwanzfl. von *Triton* kons. (Herrmannsche Flüssigk.) u. gefärbt (Häm. Del.).
b) nach einem Totalpräp. der Schwanzfl. v. *Trit.* kons. (Zenk.) u. gefärbt (Häm. Del.).
c) nach einem Schnittpräparat der Schwanzflosse von *Triton* (Zenk.; Häm. Heidenh.),
d) nach einem Totalpräparat der Kieme von *Triton* (Zenk.; Häm. Del.),
e) nach einem Schnittpräp. der Kieme von *Trit.* (Carnoysche Flüssigkeit; Häm. Del. u. Safranin),
f) nach einem Totalpräp. der Kieme von *Salamandra* (Zenk.; Häm. Del.),
g) nach einem Schnittpräp. der Kieme von *Salam.* (Flemming stark; Flemming Färbung),
h) nach einem Schnittpräp. der Schwanzfl. von *Trit.* (vom Rathsches Gemisch; Häm. Del. u. Safranin). Vergr. 990.

Fig. 24. a—d) Pseudochromatische Brocken in Epithelkernen der *Triton*larven (näheres s. Text). T. Vergr. 660.

Fig. 25. a) 2 Ebenen eines Epithelkernes aus den Kiemenblättchen der *Triton*larve nach 1stündiger Behandlung mit destill. Wasser,
b) derselbe Kern nach Zusatz von 3%iger Essigsäure (Mittelebene). T. Vergr. 660.

Fig. 26. Epithelk. aus der Kieme von *Trit.* nach 24stündiger Beeinflussung mit destill. Wasser, konserv. (Zenk.) u. gefärbt. (Häm. Del.). S. Vergr. 990.

Fig. 27. a) Normaler Epithelk. aus der Schwanzflosse von *Trit.* mit Oxychromiolen,
b) in den ersten 3 Minuten nach Zufließen von konz. Salzsäure,
c) $^1/_4$ Stunde nach Zusatz. (Nach sofort angefertigten Skizzen.) T. Vergr. 990.

Fig. 28. a) Normaler Epithelk. aus der Kieme von *Trit.*,
b) in den ersten 3 Minuten nach Zusatz von konz. Salzs.,
c) nach 4stündiger Beeinflussung (nach sofort hergestellten Skizzen). T. Vergr. 990.

Fig. 29. Epithelk. aus der Schwanzfl. von *Trit.* nach 1stündiger Beeinflussung mit konz. Salzs., konserv. (Zenk.) u. gefärbt (Häm. Del.). T. Vergr. 990.

Fig. 30. Epithelk. aus der Kieme von *Trit.* nach 1stündiger Beeinflussung mit 5%igem Ammoniak, kons. (Zenk.) u. gefärbt (Häm. Del.). T. Vergr. 990.

Tafel XVI.

Fig. 31. Epithelk. der Kieme von *Trit.* nach 1stündiger Beeinflussung mit 10%igem Natriumcarbonat, kons. (Zenk.) u. gef. (Häm. Del.). S. Vergr. 990.

Fig. 32. Epithelk. d. Kieme v. *Trit.* nach 3stündiger Behandl. mit 10%igem Natriumcarbonat, kons. (Zenk.) u. gef. (Häm. Del.). T. Vergr. 990.

Fig. 33. Epithelk. d. Kieme v. *Trit.* nach $^1/_2$stündiger Beeinfl. mit 10%iger Kochsalzlösung, nicht kons. u. ungefärbt. T. Vergr. 660.

Fig. 34. Epithelk. d. Schwanzfl. v. *Trit* nach $^1/_4$stündiger Beeinfl. mit 10%iger Kochsalzlösung, nicht konserv. u. ungefärbt. T. Vergr. 990.

Fig. 35. Epithelk. d. Schwanzfl. v. *Trit.* nach 1stündiger Behandl. mit 10%iger Kochsalzlösung, kons. (Zenk.) u. gef. (Häm. Del.). S. Vergr. 990.

Fig. 36. Epithelk. d. Schwanzfl. v. *Trit.* nach 24stünd. Beeinfl. mit 10%iger Kochsalzlösung, kons. (Zenk.) u. gef. (Häm. Del.). S. Vergr. 990.

Fig. 37. Normale Keimbläschen von *Unio bat.* (nach sofort hergestellten Skizzen)
a) gez. während es in der Eizelle lag,
b) frisch aus der Zelle getreten (Koagulationsbeginn?);
beide in Ovarialflüssigkeit. T. Vergr. 660 (ohne Zeichenapparat).

Fig. 38. Normales, konserv. (Herrmannsche Flüssigk.) u. gef. (Häm. Del.) Keimbläschen von *Unio.* S. Vergr. 990.

Fig. 39. Normales, kons. (Flemming stark) u. gef. (Häm. Del.) Keimbl. v. *Unio.* S. Vergr. 660.

Fig. 40. Normale, kons. (Zenk.) u. gef. (Häm. Del.) Keimbl. v. *Unio.* S. Vergr. a) 990; b) 660.

Fig. 41. Normales, kons. (Pikrinsalpetersäure) u. gef. (Häm. Del.) Keimbl. v. *Unio.* S. Vergr. 660.

Fig. 42. Keimbl. v. *Unio* nach 2stündiger Einwirkung von destill. Wasser, nicht konserv. u. ungefärbt. T. Vergr. 660.

Fig. 43. Keimbl. v. *Unio* nach 24stünd. Beeinfl. mit destill. Wasser, kons. (Zenk.) u. gef. (Häm. Del.). S. Vergr. 660.

Fig. 44. Keimbl. v. *Unio* nach 24stündiger Beeinfl. mit destill. Wasser, kons. (Zenk.) u. gef. (Häm. Del.). S. Vergr. 660.

Fig. 45. Eierstocksei mit Keimbl. v. *Anodonta* nach $^1/_2$stünd. Einwirkung von konz. Salzsäure, kons. (Pikrinsalpetersäure) u. gef. (Häm. Del.). S. Vergr. 660.

Fig. 46. Keimbl. v. *Anodonta* nach 3stünd. Behandl. mit konz. Salzs., kons. (Pikrinsalpetersäure) u. gef. (Häm. Del.). (Das umgebende Eiplasma ist angedeutet). S. Vergr. 990.

Fig. 47. Keimbl. v. *Anodonta* nach $^1/_4$stünd. Beeinfl. mit 5%igem Ammoniak, nicht konserv. u. ungefärbt. T. Vergr. 660.

Fig. 48. Keimbl. v. *Unio* nach $^1/_2$stünd. Einwirk. v. 5%igem Ammoniak, konserv. (Zenk.) u. gef. (Häm. Del.). S. Vergr. 660.

Fig. 49. Keimbl. v. *Unio* nach 1stünd. Einwirk. v. 5%igem Ammoniak, kons. (Pikrinsalpetersäure) u. gef. (Häm. Del.) (umgebendes Eiplasma angedeutet). S. Vergr. 660.

Fig. 50. Keimbl. v. *Unio* nach 1stünd. Einwirk. v. 10%igem Natriumcarbonat, kons. (Alk. 96%) u. gef. (Häm. Del.). S. Vergr. 660.

Fig. 51. Keimbl. v. *Unio* nach 24stünd. Behandl. mit 10%igem Natriumcarbonat, kons. (Alk. 96%) u. gef. (Häm. Del.). S. Vergr. 660.

Fig. 52. Keimbl. v. *Unio* nach $^1/_2$stünd. Beeinfl. mit 10%iger Kochsalzl., kons. (Pikrinsalpetersäure) u. gef. (Häm. Del.). S. Vergr. 660.

Fig. 53. Keimbl. v. *Unio* nach 3stünd. Beeinfl. mit 10%iger Kochsalzl., kons. (Pikrinsalpetersäure) u. gef. (Häm. Del.). S. Vergr. 660.

Lebenslauf.

Ich, Richard Gross, bin geboren zu Wimpfen am Neckar am 23. Mai 1890 als Sohn des Gastwirts Wilhelm Gross, evangelischer Konfession. Ich besuchte bis 1906 die dortige Realschule, hierauf die Oberrealschule zu Darmstadt, und verließ diese Ostern 1908 mit dem Zeugnis der Reife. Meine Universitätsstudien führten mich nach Gießen, Marburg und Halle. Hier habe ich auf dem Zoologischen Laboratorium vorliegende Dissertation angefertigt und im Dezember 1914 die mündliche Prüfung abgelegt.

Allen meinen verehrten Lehrern erlaube ich mir hier öffentlich meinen herzlichen Dank zu sagen.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.